

Amersham™ WB system

Instruções de Funcionamento

Traduzido a partir do inglês



Página deixada intencionalmente em branco

Tabela de conteúdos

1	Introdução	5
1.1	Acerca deste manual	7
1.2	Informações importantes para o utilizador	8
1.3	Informações de regulamentação	10
1.4	Amersham WB Documentação do system	14
2	Instruções de segurança	16
2.1	Precauções de segurança	17
2.2	Avisos	26
2.3	Procedimentos de emergência	32
2.4	Informações de reciclagem	34
3	Descrição do sistema	35
3.1	Descrição geral do instrumento	36
3.2	Unidade Elpho & scan	40
3.3	Unidade Western	45
3.3.1	Descrição geral	46
3.3.2	Compartimentos da unidade Western	50
3.3.3	Percursos do fluxo líquido	55
3.4	Descrição geral dos acessórios e consumíveis	60
3.5	Consumíveis de pré-etiquetagem	65
3.6	Acessórios e consumíveis para a electroforese	67
3.6.1	Amersham WB molecular weight markers	68
3.6.2	Amersham WB gel card	70
3.6.3	Amersham WB buffer strip e Amersham WB buffer strip holder	73
3.6.4	Amersham WB paper comb	75
3.7	Acessórios e consumíveis para as etapas do método Western blot.	76
3.7.1	Acessórios e consumíveis para transferência	77
3.7.2	Anticorpos secundários - teste com sondas	82
3.7.3	Suporte de secagem - PVDF secagem de cartões	84
3.7.4	Adaptador de membrana - PVDF examinar cartão	85
3.8	Outros acessórios	86
3.9	Descrição geral do software	88
4	Instalação	91
4.1	Preparação do local	92
4.2	Instalação do hardware	95
4.3	Instalação do software	109
5	Realizar uma experiência	114
5.1	Descrição geral	115
5.2	Inicie o Amersham WB analyzer	119
5.3	Configurar uma experiência no software	121
5.4	Efetuar a pré-etiquetagem de amostras	125
5.5	Preparar os Amersham WB molecular weight markers	129

Tabela de conteúdos

5.6	Efetuar a electroforese de proteínas	130
5.6.1	Antes da electroforese	131
5.6.2	Executar a electroforese	138
5.6.3	Procedimentos após a electroforese e o exame de cartões em gel	140
5.7	Efetuar transferência	142
5.7.1	Preparar e ligar soluções de transferência	143
5.7.2	Preparar sanduíche de transferência	145
5.7.3	Executar transferência	160
5.7.4	Procedimentos após a transferência	164
5.8	Efetuar testes com sonda e secagem	167
5.8.1	Preparar e ligar sondas e soluções de anticorpos	168
5.8.2	Teste com sondas	172
5.8.3	Procedimentos após o teste com sondas	177
5.8.4	Secagem	181
5.9	Examinar membrana(s) e ver resultados	183
6	Manutenção	188
6.1	Programa de manutenção	191
6.2	Instruções de manutenção	196
6.2.1	Limpeza semanal dos percursos do fluxo do teste de sondas e transferência ...	197
6.2.2	Procedimentos de substituição	200
6.2.3	Movimentar as unidades do instrumento	212
7	Informações de referência	213
7.1	Especificações do sistema	214
7.2	Guia de resistência química	219
7.3	Formulário de declaração de saúde e segurança	221
7.4	Tradução de acessórios e consumíveis	223
	Índice	224

1 Introdução

O Amersham WB system

O Amersham WB system é um sistema integrado para SDS-PAGE e análise de proteínas com Western blotting com base na detecção por fluorescência. Os passos de electroforese, exame, transferência e sondas automatizadas são todos executados pelo mesmo sistema. Estão disponíveis reagentes para pré-etiquetagem e detecção de anticorpos, assim como consumíveis para gel e membrana.

O Amersham WB system inclui o instrumento, o Amersham WB analyzer, Amersham WB software (software) e acessórios e consumíveis. O Amersham WB analyzer é constituído por duas unidades, a unidade do Amersham WB elpho & scan e a unidade Amersham WB western.

O sistema suporta várias aplicações, desde a análise rápida da composição ou abundância de proteínas à análise quantitativa avançada para comparações de níveis de proteínas entre amostras. As proteínas podem ser pré-etiquetadas com reagente corante Amersham WB CyTM5 e podem assim ser detetadas diretamente no gel após a electroforese. Em experiências Western, as amostras de proteínas não etiquetadas ou Cy5 pré-etiquetadas são transferidas para membranas, e as proteínas alvo podem ser detetadas usando anticorpos secundários Cy3 e/ou Cy5 conjugados. A detecção baseada na fluorescência oferece uma elevada sensibilidade e um amplo alcance dinâmico, permitindo a análise multiplex da mesma membrana Western blot.

A análise multiplex de proteína total pré-etiquetada com Cy5 e detecção alvo com anticorpos secundários Cy3 etiquetados permite a normalização de sinais alvo usando proteína total em cada via. O Amersham WB software de fácil utilização para o controlo dos diferentes passos do workflow e para a avaliação automática ou manual dos seus resultados é parte integrante do sistema.

Para uma lista de nomes de acessórios e consumíveis traduzidos, consulte *Secção 7.4 Tradução de acessórios e consumíveis, na página 223*.

Neste capítulo

Este capítulo contém as seguintes secções:

Secção	Consulte página
1.1 Acerca deste manual	7
1.2 Informações importantes para o utilizador	8

1 Introdução

Secção	Consulte página
1.3 Informações de regulamentação	10
1.4 Amersham WB Documentação do system	14

1.1 Acerca deste manual

Objectivo deste manual

As *Instruções de Funcionamento* fornecem-lhe as instruções necessárias para instalar, operar e manter o Amersham WB system de modo seguro.

Âmbito deste manual

As *Instruções de Funcionamento* contêm as seguintes informações:

- informação de segurança e regulamentar
 - uma descrição do sistema incluindo os acessórios e consumíveis a utilizar com o sistema
 - instruções de instalação
 - informação sobre a forma de realizar uma experiência de forma segura
 - instruções de manutenção para o utilizador
 - especificações e informação de referência adicional
-

Convenções tipográficas

Os itens do software são identificados no texto por texto a ***negrito itálico***. São utilizados os dois pontos para separar os níveis do menu, assim, ***File:Open*** refere-se ao comando ***Open*** no menu ***File***.

Os itens do hardware são identificados no texto pelo texto a **negrito** (por exemplo, o interruptor **Power**).

1.2 Informações importantes para o utilizador

Leia este documento antes de operar o Amersham WB analyzer



Todos os utilizadores devem ler as *Instruções de Funcionamento na íntegra antes de instalar, operar ou realizar a manutenção do instrumento.* Tenha sempre as *Instruções de Funcionamento* à mão quando operar o Amersham WB analyzer.

Não utilize o Amersham WB analyzer de outra forma para além da descrita na documentação do utilizador.

Se o fizer, poderá expor-se a perigos que podem levar a ferimentos pessoais e pode ainda danificar o equipamento.

Utilização pretendida

Amersham WB system é uma electroforese de proteínas e um sistema de Western blotting que inclui o exame de cartões em gel e cartões PVDF. As proteínas podem ser pré-etiquetadas com Cy5 e podem assim ser detetadas diretamente no gel após a electroforese. Em experiências Western, as amostras de proteínas não etiquetadas ou Cy5 pré-etiquetadas são transferidas para membranas, e as proteínas alvo podem ser detetadas usando anticorpos secundários Cy3 e/ou Cy5 conjugados. A deteção baseada na fluorescência oferece uma elevada sensibilidade e um amplo alcance dinâmico, permitindo a análise multiplex da mesma membrana Western blot.

Amersham WB O system destina-se apenas à utilização para fins de pesquisa e não deverá ser utilizado em quaisquer procedimentos clínicos ou para fins de diagnóstico.

Pré-requisitos

De modo a utilizar o sistema da forma pretendida, deverão ser satisfeitos os seguintes pré-requisitos:

- Deverá ter um entendimento geral da forma como o computador e o Microsoft® Windows® funcionam.
- Deverá entender os conceitos da electroforese e de Western blotting.
- O instrumento e o software devem ser instalados de acordo com as instruções em *Capítulo 4 Instalação, na página 91.*

Sugestão: Para saber mais acerca dos princípios e métodos do Western blotting e para orientações sobre a forma como realizar a técnica de Western blotting com êxito, faça o download ou requirite o manual, *Western Blotting – Principles and Methods* 28-9998-97, em www.gelifesciences.com.

Avisos de segurança

Esta documentação do utilizador contém indicações de segurança (AVISO, ADVERTÊNCIA e NOTA) relacionadas com a utilização segura do produto. Consulte as definições abaixo.



ADVERTÊNCIA

ADVERTÊNCIA indica uma situação perigosa que, se não for evitada, poderá resultar em morte ou dano grave. É importante não continuar até que todas as condições indicadas seja atingidas e claramente entendidas.



ATENÇÃO

ATENÇÃO indica uma situação perigosa que, se não for evitada, poderá resultar em danos moderados ou menores. É importante não continuar até que todas as condições indicadas seja atingidas e claramente entendidas.



AVISO

AVISO indica instruções que deverão ser seguidas para evitar danos no produto ou noutro equipamento.

Notas e sugestões

Nota: Uma nota é utilizada para indicar informação que é importante para uma utilização otimizada e sem problemas do produto.

Sugestão: Uma sugestão contém informação útil que pode melhorar ou otimizar os seus procedimentos.

1.3 Informações de regulamentação

Introdução

Esta secção descreve as diretivas e as normas que são cumpridas pelo Amersham WB system.

Informações de fabrico

A tabela abaixo resume as informações de fabrico necessárias. Para informações adicionais, consulte a Declaração de Conformidade (DoC) UE.

Requisito	Conteúdo
Nome e morada do fabricante	GE Healthcare Bio-Sciences AB, Björkgatan 30, SE 751 84 Uppsala, Sweden

Conformidade com as Diretivas da UE

Este produto cumpre as diretivas europeias indicadas na tabela, ao preencher as normas harmonizadas correspondentes.

Directiva	Designação
2006/42/CE	Directiva de Máquinas (DM)
2004/108/CE	Directiva de Compatibilidade Electromagnética (CEM)
2006/95/CE	Directiva de Baixa Tensão (DBT)

Marcação CE



A marcação CE e a correspondente Declaração de Conformidade CE são válidas para o instrumento quando:

- é utilizado como uma unidade autónoma ou
- está ligado a outros produtos recomendados ou descritos na documentação do utilizador e
- utilizadas no mesmo estado aquando o seu fornecimento pela GE, exceto no que diz respeito a alterações descritas na documentação do utilizador.

Normas internacionais

Os requisitos padrão cumpridos por este produto são resumidos na tabela abaixo.

Norma	Descrição	Notas
EN/IEC 61010-1, UL 61010-1, CAN/CSA-C22.2 N.º 1010.1	Requisitos de segurança para equipamento eléctrico em termos de medição, controlo e utilização laboratorial.	A norma EN está harmonizada com a directiva da UE 2006/95/CE.
EN/IEC61326-1 (Emissão de acordo com CISPR 11, Grupo 1, classe A)	Equipamento eléctrico para medição, controlo e utilização laboratorial - requisitos EMC.	A norma EN está harmonizada com a directiva da UE 2004/108/CE.
EN ISO 12100	Segurança da maquinaria. Princípios básicos para concepção. Avaliação de risco e redução de risco.	A norma EN ISO está harmonizada com a directiva da UE 2006/42/CE.
EN/IEC 60825-1	Segurança dos produtos laser.	A norma EN está harmonizada com a directiva da UE 2006/95/CE.

Regulamentos e normas relativos a laser



Este equipamento é um Produto a Laser de classe 1 (IEC 60825-1:2007/EN 60825-1:2007).

Este instrumento cumpre os requisitos de segurança de radiação laser especificados no Código de Regulamentos Federais (TÍTULO 21 CFR, Capítulo 1, Subcapítulo J, Parte 1040-10 Produtos a Laser).

Conformidade FCC

Este dispositivo está em conformidade com a parte 15 das Regras FCC. A operação está sujeita às duas condições seguintes: (1) Este dispositivo não poderá provocar interferências prejudiciais, e (2) este dispositivo deverá aceitar qualquer interferência recebida, incluindo uma interferência que possa provocar uma operação não desejada.

Nota: *Adverte-se o utilizador para o facto de que quaisquer alterações ou modificações que não sejam expressamente aprovadas pela GE poderão anular a autorização para utilizar este equipamento.*

Este equipamento foi testado e reconhecido como estando em conformidade com os limites para um dispositivo digital da Classe A, de acordo com a parte 15 das Regras FCC. Estes limites foram estipulados para proporcionar uma protecção razoável contra interferências prejudiciais quando o equipamento é operado num ambiente comercial. Este equipamento gera, utiliza e pode irradiar energia de radiofrequência e, quando não instalado e utilizado de acordo com o manual de instruções, poderá provocar interferências prejudiciais em comunicações de rádio. É provável que a operação deste equipamento numa área residencial provoque interferências prejudiciais, e nesse caso o utilizador terá de corrigir a interferência por sua própria conta.

Conformidade ambiental

Regulamento	Designação
2011/65/UE	Directiva de restrição de substâncias perigosas (RoHS)
2012/19/UE	Directiva de resíduos de equipamentos eléctricos e electrónicos (REEE)
Regulamento (CE) N.º 1907/2006	Registo, avaliação, autorização e restrição de químicos (REACH)

Regulamento	Designação
ACPEIP	Administração sobre o Controlo de poluição provocada por produtos de informação electrónica, Restrição da China de substâncias perigosas (RoHS)

Cumprimento de regulamentação sobre equipamento ligado

Qualquer equipamento ligado ao Amersham WB analyzer deve cumprir os requisitos de segurança das normas IEC/EN/UL/CSA 61010-1, IEC/EN/UL/CSA 60950-1, ou outros regulamentos e normas de segurança nacionais relevantes.

O equipamento deverá ser instalado e utilizado de acordo com as instruções do fabricante. Na UE, o equipamento ligado tem de ter a marca CE.

1.4 Amersham WB Documentação do system

Introdução

Esta secção descreve a documentação do utilizador e a documentação associada do Amersham WB system.

Documentação do utilizador

A tabela seguinte indica a documentação do utilizador entregue com o Amersham WB system:

Documento	Conteúdo principal	Disponibilidade
Amersham WB analyzer Instruções para Desembalar	Esta instrução descreve a forma de des-embalar o Amersham WB analyzer.	Interior da caixa de entrega do Amersham WB analyzer.
Instruções de funcionamento do Amersham WB system	Este manual contém a informação necessária para: • instalar, manusear e manter o Amersham WB system de forma segura • realizar uma experiência típica de forma segura Também contém informações de segurança e regulamentares, uma descrição do sistema e informação de referência.	É fornecida com o sistema a versão em Inglês impressa. As versões traduzidas estão disponíveis como ficheiros PDF no CD da Documentação do Utilizador.
Amersham WB system User Manual	Este manual contém a informação necessária para: • operar e manter o Amersham WB system de forma segura • planificar, executar e avaliar a electroforese e experiências Western • resolver problemas do sistema e dos resultados Também contém uma descrição do sistema, informação de referência e informação sobre encomendas.	Integrado no Amersham WB software como manual em HTML no menu de Ajuda. Também disponível como ficheiro PDF no CD da Documentação do Utilizador.

Documento	Conteúdo principal	Disponibilidade
Amersham WB software Help	O Amersham WB software Help contém informações sobre: - workflows do utilizador para a realização de electroforese e experiências Western - descrições do software - links para o Amersham WB system User Manual para informações detalhadas sobre o manuseamento do instrumento, acessórios e consumíveis	Integrado no Amersham WB software (no painel direito do software).

Manual do método

O manual *Western Blotting – Principles and Methods* oferece orientações para o workflow completo de Western blotting. Descreve aspetos teóricos e práticos da técnica, juntamente com sugestões úteis. O objetivo do manual é orientar e inspirar iniciantes, assim como especialistas, para um Western blotting com êxito.

Faça o download ou requisite o manual, *Western Blotting – Principles and Methods* 28-9998-97, em www.gelifesciences.com.

Ficheiros de dados e notas sobre a aplicação

Ficheiros de dados e notas da aplicação podem ser requisitados ou transferidos em www.gelifesciences.com.

2 Instruções de segurança

Sobre este capítulo

Este capítulo descreve as precauções de segurança e os procedimentos de encerramento de emergência do Amersham WB system. São também descritas as etiquetas nos instrumentos e as informações relacionadas com a reciclagem.

Neste capítulo

Este capítulo contém as seguintes secções:

Secção	Consulte página
2.1 Precauções de segurança	17
2.2 Avisos	26
2.3 Procedimentos de emergência	32
2.4 Informações de reciclagem	34

2.1 Precauções de segurança

Introdução

O Amersham WB analyzer é alimentado por tensão elétrica e manuseia líquidos que podem ser perigosos. Antes de instalar, utilizar ou efetuar a manutenção das unidades do instrumento, deverá ter cuidado com os perigos descritos neste manual.

Siga sempre os regulamentos locais e as instruções durante a operação e a manutenção do sistema e o manuseamento de químicos de forma segura.

Siga as instruções fornecidas para evitar lesões pessoais ou danos no equipamento.

As precauções de segurança nesta secção estão agrupadas nas seguintes categorias:

- Precauções gerais
- Líquidos inflamáveis
- Protecção pessoal
- Instalação e movimentação
- Funcionamento do sistema
- Manutenção
- Retirada de funcionamento

Precauções gerais



ADVERTÊNCIA

Não utilize o Amersham WB analyzer de outra forma para além da descrita no Instruções de Funcionamento.



ADVERTÊNCIA

Não use quaisquer acessórios não fornecidos ou recomendados pela GE.

2 Instruções de segurança

2.1 Precauções de segurança



ADVERTÊNCIA

Não utilize o Amersham WB analyzer se não estiver a funcionar correctamente, nem se tiver sofrido qualquer dano como, por exemplo:

- danos no cabo de alimentação ou ficha
- danos causados pela queda do equipamento
- danos noutras peças que possam afetar o funcionamento

Líquidos inflamáveis



ATENÇÃO

Perigo de incêndio.

- Se for derramado líquido no exterior da caixa da unidade do Elpho & scan ou Western, desligue a alimentação elétrica e limpe o líquido.
- Se for derramado líquido nas unidades do instrumento, penetrando na caixa da unidade do Elpho & scan ou do Western, desligue o cabo de alimentação das unidades e contacte a assistência.



ATENÇÃO

Perigo de incêndio. Certifique-se que a tubagem de resíduos da unidade do Western está direcionada para um frasco de resíduos por baixo da bancada e que não existem fugas antes de iniciar uma execução. É necessário um frasco de resíduos vazio de 4 l, no mínimo.



ATENÇÃO

Perigo de incêndio. Não utilize soluções tampão de transferência que consistam em mais de 40% de etanol ou 40% de metanol. É recomendada a utilização de apenas 20% de etanol em tampões de transferência.

Proteção pessoal



ADVERTÊNCIA

Use sempre luvas, vestuário e óculos de proteção ao manusear cartões em gel, cartões PVDF e outros consumíveis fornecidos com o Amersham WB system.



ADVERTÊNCIA

Ao trabalhar com pré-etiquetagem de amostras de proteínas:

- Use sempre vestuário de proteção, luvas e óculos.
- Leia a Ficha de Dados de Segurança (SDS/MSDS) antes de efetuar a pré-etiquetagem de amostras.



ADVERTÊNCIA

O Amersham WB analyzer é um produto de Classe A. Num ambiente doméstico, pode causar interferências de rádio e, neste caso, o utilizador pode ter de tomar as medidas adequadas.



ATENÇÃO

Substâncias perigosas. Aquando da utilização de agentes químicos e biológicos perigosos, tome todas as medidas de proteção adequadas, tais como a utilização de óculos de proteção e luvas resistentes às substâncias a utilizar. Siga os regulamentos nacionais e/ou locais para um funcionamento, manutenção e retirada de funcionamento seguros do equipamento.



ATENÇÃO

Após a pré-etiquetagem de proteínas nas amostras, pode surgir um forte odor a partir de vestígios de sulfureto de dimetilo (DMS) e sulfóxido de dimetilo (DMSO). Pode ser necessária a ventilação por exaustão local. Siga os regulamentos locais e as instruções para um funcionamento seguro.

2 Instruções de segurança

2.1 Precauções de segurança



ATENÇÃO

Use sempre luvas, vestuário e óculos de proteção durante a operação e manutenção do Amersham WB analyzer.



ATENÇÃO

Equipamento de protecção individual (EPI). Sempre que embalar, desembalar, transportar ou deslocar o sistema, usar:

- Calçado de protecção, de preferência com revestimento em folha de aço
- Luvas de trabalho, de protecção contra extremidades afiadas.
- Óculos de protecção

Instalação e movimentação



ADVERTÊNCIA

Coloque o Amersham WB analyzer numa sala com ventilação por exaustão caso seja usado metanol ou outros químicos que requeiram ventilação.



ADVERTÊNCIA

Tensão de alimentação. Certifique-se de que a tensão de alimentação na tomada da parede corresponde à indicação no instrumento, antes de ligar o cabo de alimentação.



ADVERTÊNCIA

Certifique-se de que o sistema é colocado numa bancada plana e estável com espaço adequado para a ventilação.



ADVERTÊNCIA

Não bloqueie o acesso ao interruptor e ao cabo de alimentação. O interruptor de alimentação deverá ter sempre um acesso fácil. O cabo de alimentação com ficha deverá ser sempre fácil de desligar.



ADVERTÊNCIA

Ligação à terra de proteção e cabo de alimentação.

O Amersham WB analyzer deve ser sempre ligado a uma tomada de alimentação com ligação à terra.

Utilize apenas cabos de alimentação com 3 fios autorizados, fornecidos ou aprovados pela GE, ou em conformidade com todos os requisitos elétricos locais aplicáveis.



ATENÇÃO

Nunca mova a unidade do Western com os frascos colocados sobre a unidade.



ATENÇÃO

Objecto pesado. São necessárias duas pessoas para levantar os instrumentos em segurança.



AVISO

Qualquer computador utilizado com o equipamento deverá cumprir a IEC/EN/UL/CSA 60950-1 ou outros regulamentos de segurança. Deverá ser instalado e utilizado de acordo com as instruções do fabricante.



AVISO

Desligue os cabos. Para evitar danos no equipamento, desligue sempre os cabos antes de mover uma unidade do instrumento.

Funcionamento do sistema



ADVERTÊNCIA

Explosão de vidro. Não execute o sistema se o vidro na tampa de vedação na unidade do Elpho & scan estiver arranhado ou partido. Desligue o instrumento, desconecte o cabo de alimentação e contacte um engenheiro de assistência autorizado.



ADVERTÊNCIA

Perigo de choque elétrico após derramamento durante a execução. Se existir risco de líquido derramado poder penetrar na caixa do Amersham WB analyzer, desligue o instrumento de imediato, desligue o cabo de alimentação e contacte o engenheiro de assistência autorizado.



ADVERTÊNCIA

Após a electroforese ou após a transferência (quando a sanduíche de transferência tiver sido aberta e o cartão PVDF tiver sido colocado no compartimento das sondas), elimine o gel de forma segura. Leia a Ficha de Dados de Segurança (SDS/MSDS) de cartões em gel para instruções de segurança relativas ao gel e à eliminação do gel.



ATENÇÃO

Peças móveis. Tenha cuidado ao abrir/fechar o carregador para evitar que os dedos ou vestuário fiquem presos quando o carregador se movimenta.

Nunca coloque frascos ou recipientes à frente da unidade do Elpho & scan. Os mesmos podem cair quando o carregador é aberto.



ATENÇÃO

Perigo de choque eléctrico. Interrompa sempre uma transferência em curso antes de limpar líquido do instrumento ou da bancada.



ATENÇÃO

Perigo de entalamento. Não toque na câmara de sondas em movimento durante uma execução.



ATENÇÃO

Não remova nenhuma tampa da unidade do Elpho & scan. No interior da unidade existe um laser de classe 3B.



ATENÇÃO

Para evitar salpicos de líquidos perigosos, use filtros de admissão resistentes ligados à tubagem nos frascos.



AVISO

Não utilize químicos diferentes dos referidos nas informações de resistência química.

Manutenção



ADVERTÊNCIA

Perigo de choque eléctrico. Todas as reparações deverão ser feitas por pessoal de assistência autorizado pela GE. Não abra quaisquer tampas nem substitua peças, exceto se especificamente indicado na documentação do utilizador.



ADVERTÊNCIA

Desligue a alimentação. Desligue sempre a alimentação da unidade do instrumento antes de substituir qualquer componente na mesma, a menos que seja indicado o contrário na documentação do utilizador.

2 Instruções de segurança

2.1 Precauções de segurança



ADVERTÊNCIA

Remova quaisquer frascos do suporte para frascos antes de abrir a tampa do compartimento de assistência.



ADVERTÊNCIA

Aquando da utilização de químicos perigosos, evite o derramamento e utilize óculos de proteção e outro equipamento de proteção individual adequado. Por exemplo, o NaOH é corrosivo e portanto perigoso para a saúde.



ADVERTÊNCIA

Só devem ser utilizadas peças sobressalentes e acessórios aprovados ou fornecidos pela GE para a manutenção ou assistência do sistema.



ADVERTÊNCIA

Quando substituir um cabo de alimentação danificado, utilize um cabo do mesmo tipo e com a mesma dimensão do anterior, e que esteja em conformidade com todos os requisitos elétricos locais aplicáveis e aprovado pela GE.



ADVERTÊNCIA

Desligue sempre a corrente elétrica antes de substituir o fusível de rede. Para a proteção contínua contra risco de incêndio, substitua apenas por um fusível do mesmo tipo e classificação, conforme indicado nas etiquetas da unidade do instrumento.



ATENÇÃO

Aquando da utilização de químicos perigosos, tome todas as medidas de proteção adequadas, tais como a utilização de óculos de proteção e luvas resistentes aos químicos a utilizar. Siga as instruções e os regulamentos nacionais e/ou locais para um funcionamento e manutenção seguros do sistema.

Assistência



ADVERTÊNCIA

Descontamine o equipamento antes da revisão/assistência para assegurar que os resíduos perigosos são removidos.

Retirada de funcionamento



ADVERTÊNCIA

Descontamine o equipamento antes da paragem para assegurar que os resíduos perigosos são removidos.

2.2 Avisos

Introdução

Esta secção descreve as etiquetas de segurança e as etiquetas relacionadas com substâncias perigosas que estão anexadas ao Amersham WB analyzer. Para informações acerca de avisos do equipamento do computador, consulte as instruções do fabricante.

Localização das etiquetas no Amersham WB analyzer

A ilustração abaixo apresenta a localização das etiquetas na unidade do Elpho & scan e do Western.

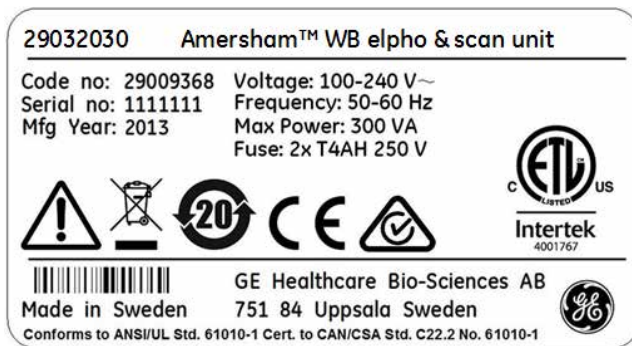


2.2 Avisos

Peça	Descrição
1	Computer
2	Western unit
3	Etiqueta do produto unidade Amersham WB elpho & scan
4	Etiqueta de segurança relativa à luz do laser
5	Etiqueta do produto unidade Amersham WB western
6	Elpho & scan unit
7	Only for service

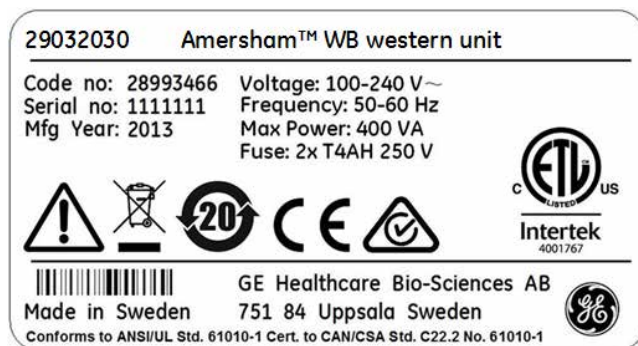
Etiqueta da unidade do Elpho & scan

A ilustração abaixo mostra um exemplo da etiqueta do produto que está anexada à unidade do Elpho & scan. A etiqueta está localizada no painel posterior da unidade do instrumento.



Etiqueta da unidade do Western

A ilustração abaixo mostra um exemplo da etiqueta do produto que está anexada à unidade do Western. A etiqueta está localizada no painel posterior da unidade do instrumento.



Símbolos de segurança usados nas etiquetas da unidade do instrumento

São utilizados os seguintes símbolos de segurança nas etiquetas:

Aviso	Descrição
	Advertência! Leia a documentação do utilizador antes de utilizar o sistema. Não abra quaisquer tampas nem substitua peças a menos que especificamente indicado na documentação do utilizador.
	O sistema está de acordo com as directrizes Europeias aplicáveis. Consulte <i>Normas internacionais, na página 11</i> .
	O sistema está em conformidade com os requisitos aplicáveis para a Austrália e Nova Zelândia.
	Este símbolo indica que o Amersham WB system foi certificado por um Laboratório de testes reconhecido nacionalmente (NRTL). NRTL significa uma organização que a Administração de saúde e segurança ocupacional (OSHA) reconheceu como cumprindo os requisitos legais no título 29 do Código de Regulamentações Federais dos EUA (29 CFR), Parte 1910.7.

Símbolos relacionados com substâncias perigosas utilizados nas etiquetas das unidades do instrumento

O seguintes símbolos nas etiquetas estão relacionados com substâncias perigosas:

Aviso	Descrição
	Este símbolo indica que os resíduos de equipamentos eléctricos e electrónicos não devem ser eliminados como resíduos municipais não seleccionados e devem ser recolhidos em separado. Contacte um representante autorizado do fabricante para obter informações relativamente à desactivação do equipamento.
	Este símbolo indica que o produto contém materiais perigosos para lá dos limites estabelecidos pela norma chinesa SJ/T11363-2006 Requisitos para Limites de Concentração de Determinadas Substâncias Perigosas em Electrónica.

Etiqueta de segurança relativa à luz do laser

As etiquetas seguintes referem-se à luz laser e a primeira etiqueta está afixada no painel posterior da unidade Elpho & scan. A segunda etiqueta está afixada no interior do carregador Elpho & scan:

Aviso	Descrição
CLASS 1 LASER PRODUCT Complies with 21 CFR 1040.10 and 1040.11 except for deviations pursuant to Laser Notice No. 50 dated July 24, 2007. IEC/EN 60825-1:2007 Jan☐ Feb☐ Mar☐ Apr☐ May☐ Jun☐ Jul☐ Aug☐ Sep☐ Oct☐ Nov☐ Dec☐	Este equipamento é um Produto a Laser de classe 1 (IEC 60825-1:2007/EN 60825-1:2007). Este instrumento cumpre os requisitos de segurança de radiação laser especificados no Código de Regulamentos Federais (TÍTULO 21 CFR, Capítulo 1, Subcapítulo J, Parte 1040-10 Produtos a Laser). A etiqueta também indica o mês de fabrico.

Aviso	Descrição
	O símbolo fica visível quando o carregador Elpho & scan é aberto.

2.3 Procedimentos de emergência

Introdução

Esta secção descreve como efetuar o encerramento de emergência do Amersham WB analyzer e o resultado no caso de uma falha de alimentação.

Encerramento de emergência



Numa situação de emergência, desligue o cabo de alimentação elétrica dos **painéis posteriores** da unidade do Elpho & scan e da unidade do Western.

Assegura-se assim que a energia é imediatamente cortada, mesmo se for utilizada uma fonte de alimentação ininterrupta (UPS).

Falha de alimentação

O resultado de uma falha de alimentação é descrito em baixo:

Falha de alimentação para...	irá resultar em...
Amersham WB analyzer	- Quaisquer experiências em curso serão interrompidas. As experiências não serão continuadas quando a alimentação voltar ao normal. Nota: <i>Uma UPS pode eliminar a perda de dados durante e depois de uma falha de alimentação e dá tempo para um encerramento controlado do Amersham WB analyzer.</i> - O momento da paragem ficará registado no software para as unidades do instrumento.

Falha de alimentação para...	irá resultar em...
Computador	• O computador ligado à unidade do Elpho & scan é encerrado. • Quaisquer experiências em curso serão continuadas e concluídas, desde que o instrumento ainda tenha alimentação. • Quando o computador é reiniciado e o contacto é restabelecido, os resultados serão guardados para a experiência. Se aplicável, as imagens serão digitalizadas.

Reinício após o encerramento de emergência ou falha de alimentação no instrumento

Quando a alimentação é normalizada, nenhuma das experiências que estavam a decorrer no momento do encerramento de emergência será continuada. Proceda da seguinte forma:

Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|---|
| 1 | <p>Se os cabos de alimentação elétrica estiverem desligados, ligue os cabos aos painéis posteriores das unidades do instrumento.</p> <p>Certifique-se que os interruptores da alimentação elétrica nos painéis posteriores das unidades do instrumento estão ligados (II).</p> <p><i>Resultado:</i> As unidades do instrumento são iniciadas.</p> |
| 2 | <p>Iniciar o computador e o software (consultar <i>Iniciar o software</i>, na página 121).</p> <p>Quando as unidades do instrumento são ligadas, o evento de registo será guardado no registo da experiência.</p> |
| 3 | <p>Se desejar concluir uma execução que foi interrompida, abra o ficheiro da experiência para a execução. De seguida, abra a Experiment Information caixa de diálogo e selecione o separador Experiment log. Na Experiment log, verifique em que passo a experiência foi interrompida. Remova as partes do passo que foram concluídas quando a execução foi interrompida e reinicie o passo.</p> |

2.4 Informações de reciclagem

Introdução

Esta secção contém informações sobre a desativação do Amersham WB analyzer.

Descontaminação

O Amersham WB analyzer deve ser descontaminado antes de ser desativado e todos os regulamentos locais deverão ser seguidos relativamente ao desmantelamento do equipamento.

Instruções gerais de eliminação

Quando desativar o Amersham WB analyzer os vários materiais devem ser separados e reciclados de acordo com os regulamentos nacionais e locais para o ambiente.

Reciclagem de substâncias perigosas

O Amersham WB analyzer contém substâncias perigosas. Estão disponíveis informações detalhadas através do seu representante da GE.

Eliminação de componentes eléctricos

Os resíduos dos equipamentos eléctricos e eletrónicos não devem ser eliminados no sistema de resíduos urbanos, devendo ser recolhidos em separado. Contacte um representante autorizado do fabricante para obter informações relativamente à desativação do equipamento.



3 Descrição do sistema

Sobre este capítulo

Este capítulo descreve as diferentes peças do Amersham WB system. O Amersham WB system é constituído por::

- Amersham WB analyzer (duas unidades)
- acessórios e consumíveis para utilizar com o instrumento
- um computador (não está incluído na encomenda)
- Amersham WB software

Neste capítulo

Este capítulo contém as seguintes secções:

Secção	Consulte página
3.1 Descrição geral do instrumento	36
3.2 Unidade Elpho & scan	40
3.3 Unidade Western	45
3.4 Descrição geral dos acessórios e consumíveis	60
3.5 Consumíveis de pré-etiquetagem	65
3.6 Acessórios e consumíveis para a electroforese	67
3.7 Acessórios e consumíveis para as etapas do método Western blot.	76
3.8 Outros acessórios	86
3.9 Descrição geral do software	88

3.1 Descrição geral do instrumento

Introdução

Esta secção fornece uma descrição geral do Amersham WB analyzer.

O Amersham WB analyzer é constituído por duas unidades:

- Amersham WB Unidade elpho & scan
- Amersham WB Unidade western

As unidades do instrumento são controladas a partir de um computador com Amersham WB software.

Nota: *As unidades do instrumento devem estar sempre ligadas entre si durante uma execução. Ambas as unidades devem estar ligadas ao executar uma experiência na unidade Western.*

Interruptores de segurança

Existe tensão alta e dois lasers no interior da unidade Elpho & scan. A unidade tem dois interruptores de segurança que interrompem a alimentação ao conversor de tensão alta e lasers quando o carregador é aberto.

Existe tensão alta no interior do reservatório de transferência na unidade Western. A unidade tem interruptores de segurança que interrompem a alimentação quando a tampa do reservatório de transferência é aberta.

Ilustração do Amersham WB analyzer

A ilustração abaixo mostra o Amersham WB analyzer, com a unidade Elpho & scan à esquerda e a unidade Western à direita.



Ilustração do painel de instrumentos

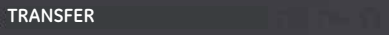
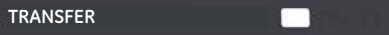
Está disponível a mesma configuração dos indicadores luminosos para cada compartimento nas unidades do instrumento (electroforese e exame, transferência, teste com sondas e secagem). Quando as unidades do instrumento estão ligadas, os indicadores luminosos que mostram os nomes dos compartimentos estão acesos. Os indicadores estão localizados no painel de instrumentos de cada unidade.

A ilustração abaixo mostra os painéis de instrumentos das duas unidades, com os nomes dos compartimentos acesos.



Indicadores no instrumento

A tabela abaixo descreve os diferentes indicadores. Os indicadores (Pronto/execução terminada, Execução e Erro ou aviso) são idênticos para todos os compartimentos da unidade do instrumento. Neste exemplo, **TRANSFER** os indicadores estão descritos.

Indicadores de estado	Estado	Descrição
	Arranque	O texto está aceso quando a unidade está a iniciar e a efetuar testes internos.
	Pronto/execução terminada	O indicador luminoso está aceso quando: - a unidade/compartimento está pronta para uma nova experiência - uma etapa (por exemplo: electroforese, exame, transferência, teste com sondas ou secagem) foi concluída

Indicadores de estado	Estado	Descrição
	Execução	O indicador luminoso está aceso: - quando a unidade/compartimento está em execução - durante a limpeza dos percursos do fluxo do teste de sondas e da transferência Nota: <i>Não abra a(s) tampa(s) correspondente(s) durante a execução. Por exemplo, abrir a tampa de transferência durante a mesma interrompe a execução da transferência e pode afetar o resultado.</i>
	Erro ou aviso	O indicador luminoso está aceso quando ocorre um erro Consulte o Amersham WB software para obter informações sobre o erro. O software fornece indicações sobre como corrigir o problema.

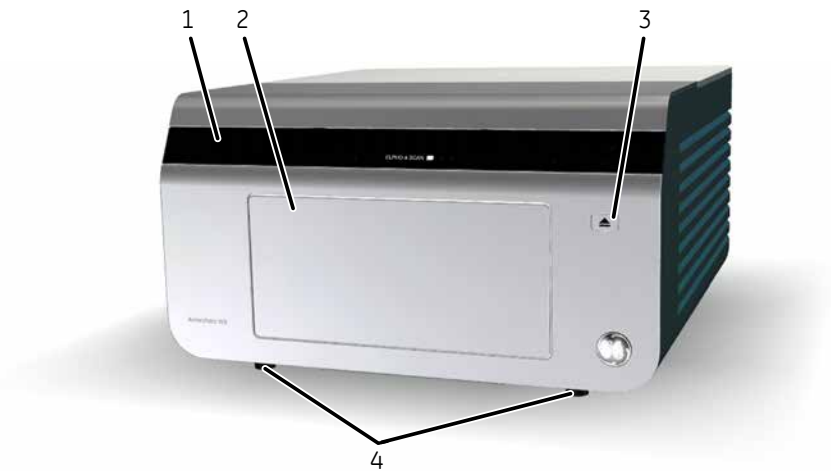
3.2 Unidade Elpho & scan

Introdução

A unidade Elpho & scan é utilizada para separar proteínas de amostra tratadas SDS num gel poliacrilamida. Também é utilizada para examinar os géis após a electroforese e os cartões PVDF após o teste com sondas e a secagem numa experiência Western. Esta secção fornece uma descrição geral da unidade Elpho & scan .

Ilustração da unidade Elpho & scan

A ilustração abaixo apresenta as principais peças da unidade Elpho & scan :

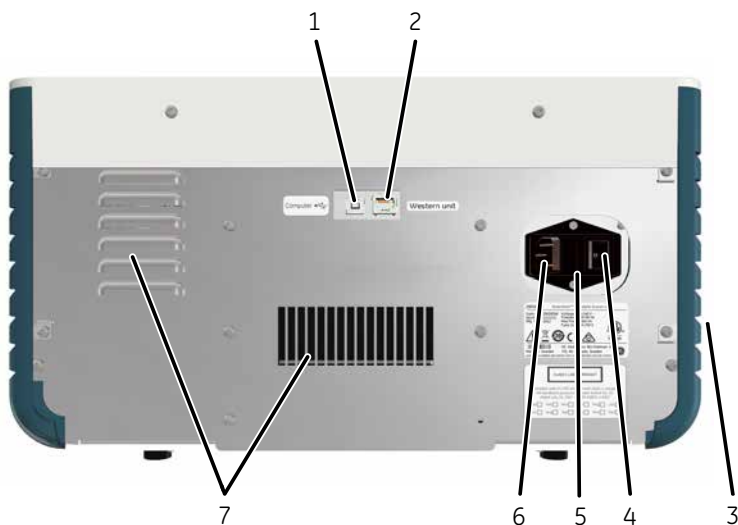


Peça	Descrição
1	Painel de instrumentos (com indicadores de estado)
2	Elpho & scan carregador Para carregar cartões em gel ou cartões PVDF .

Peça	Descrição
3	Botão ejetar  Para abrir/fechar o carregador do compartimento de exame e electroforese. Nota: <i>O carregador só pode ser aberto quando não estiver em execução uma experiência de exame ou electroforese. Qualquer execução em curso deve ser interrompida, utilizando a instrução do software apropriada, de forma a ejetar o carregador.</i>
4	Pés ajustáveis (4 pés, um em cada canto)

Ilustração do painel posterior da unidade Elpho & scan

A ilustração abaixo apresenta as principais peças do painel posterior da unidade do Elpho & scan:



Peça	Descrição
1	Conector cabo USB (USB tipo B) Para ligar a unidade do Elpho & scan a um computador.
2	Ligação de comunicação para a unidade do Western (utilize um cabo ethernet)
3	Entrada de ar
4	Interruptor de alimentação eléctrica ON (ligado)=I, OFF (desligado)=O
5	Gaveta dos fusíveis (5x20 mm)
6	Conector do cabo de alimentação (60320/C14)
7	Saídas de ar

Elpho & scan carregador

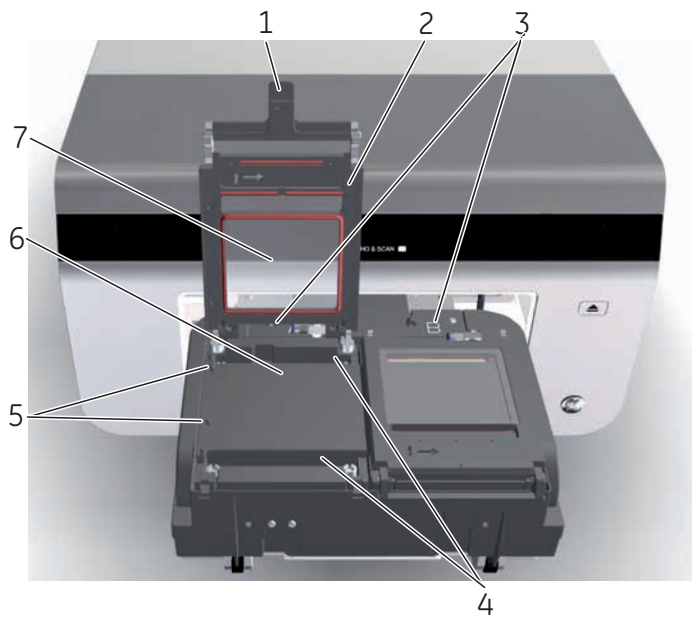
O carregador Elpho & scan é utilizado para carregar:

- cartões em gel para a electroforese e exames
- Cartões PVDF para exames. Ao carregar cartões PVDF para exames, deve ser colocada em primeiro lugar, um Amersham WB membrane adapter na placa do cartão (consulte *Secção 5.9 Examinar membrana(s) e ver resultados, na página 183* para mais informações).

O carregador é ejetado da unidade Elpho & scan premindo o botão ejetar no painel frontal.

Ilustração do carregador Elpho & scan

A ilustração abaixo mostra a unidade Elpho & scan com o carregador ejetado e as tampas de vedação da placa do cartão esquerda abertas.



Peça	Descrição
1	Engate Para abrir a tampa de vedação.
2	Tampa de vedação
3	Indicador de posição A e posição B
4	Cavidades Para os suportes de tiras de tampão com conectores elétricos para os elétrodos de tampão.
5	Pinos guia Para uma correta colocação dos cartões em gel ou dos adaptadores de membrana, incluindo os cartões PVDF.
6	Placa do cartão Para arrefecer os cartões em gel e manter os cartões planos durante o exame.

3 Descrição do sistema

3.2 Unidade Elpho & scan

Peça	Descrição
7	Vidro de proteção

3.3 Unidade Western

Introdução

A unidade Western é utilizada para:

- transferir as proteínas separadas no gel para a membrana
- testar com sondas as proteínas na membrana com anticorpos primários e, depois, anticorpos secundários, conjugados com CyDye™
- secar os cartões PVDF (antes do exame na unidade Elpho & scan)

Esta secção fornece uma descrição geral da unidade Western .

Nesta secção

Esta secção contém as seguintes subsecções:

Secção	Consulte página
3.3.1 Descrição geral	46
3.3.2 Compartimentos da unidade Western	50
3.3.3 Percursos do fluxo líquido	55

3.3.1 Descrição geral

Introdução

Esta secção fornece uma descrição geral dos painéis frontal e posterior da unidade Western.

Ilustração da unidade Western

A ilustração abaixo apresenta as principais peças da unidade Western :



Peça	Descrição
1	Tampa do compartimento de anticorpos
2	Área pressionada para abrir a tampa do compartimento de anticorpos
3	Painel de instrumentos (para os indicadores de estado)
4	Tampa do reservatório de transferência

3 Descrição do sistema

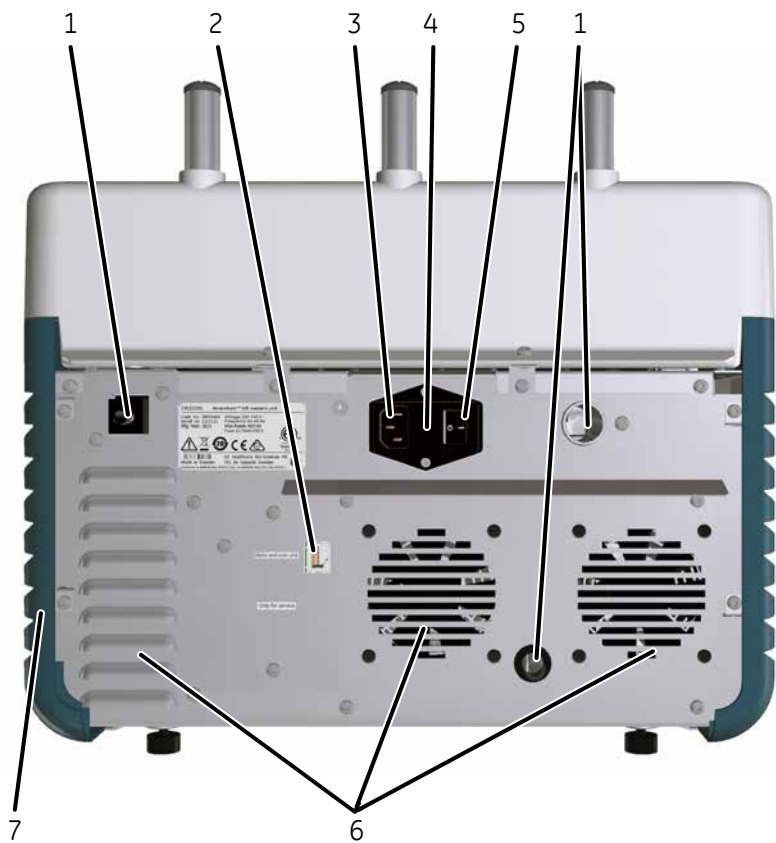
3.3 Unidade Western

3.3.1 Descrição geral

Peça	Descrição
5	Suporte para frascos (e tampa do compartimento de assistência) Nota: <i>Remova o suporte para frascos apenas quando as bombas e tubagens forem inspecionadas ou quando as peças forem substituídas, como descrito em Capítulo 6 Manutenção, na página 188.</i>
6	Suportes de tubagem
7	Tampa do compartimento do teste com sondas
8	Tampa do compartimento de secagem

Ilustração do painel posterior da unidade Western

A ilustração abaixo apresenta as principais peças do painel posterior da unidade do Western:



Peça	Descrição
1	Saídas para tubagens de escoamento e extravasamento
2	Ligação de comunicação para a unidade Elpho & scan (utilize um cabo ethernet)
3	Conector do cabo de alimentação (60320/C14)
4	Gaveta dos fusíveis (5x20 mm)
5	Interruptor de alimentação elétrica (ON (ligado)= I , OFF (desligado)= O)
6	Saídas de ar

3 Descrição do sistema

3.3 Unidade Western

3.3.1 Descrição geral

Peça	Descrição
7	Entrada de ar

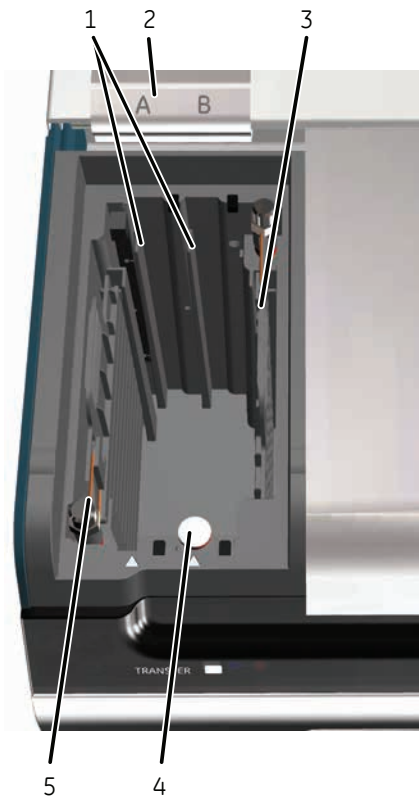
3.3.2 Compartimentos da unidade Western

Introdução

Esta secção descreve os diferentes compartimentos da unidade Western com as tampas abertas.

Ilustração do reservatório de transferência

Unidade A ilustração abaixo mostra o reservatório de transferência da unidade Western.

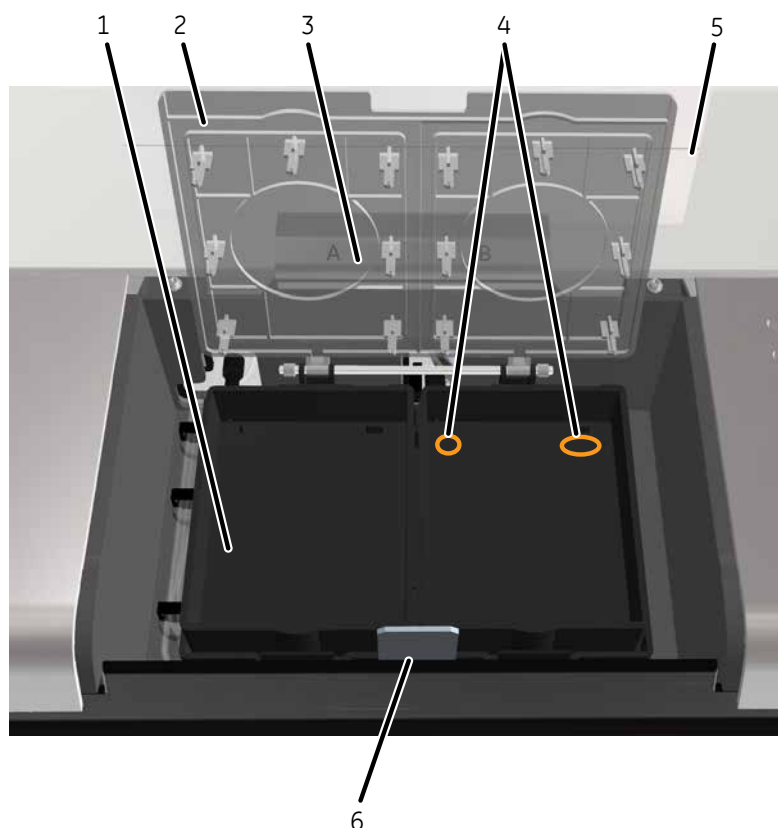


Peça	Descrição
1	Rastros guia da sanduíche
2	Indicador de posição A e posição B

Peça	Descrição
3	Elétrodo de transferência direito
4	Filtro do reservatório de transferência
5	Elétrodo de transferência esquerdo

Ilustração do compartimento do teste com sondas

Unidade A ilustração abaixo mostra o compartimento do teste com sondas da unidade Western.



Peça	Descrição
1	Câmara de sondas

3 Descrição do sistema

3.3 Unidade Western

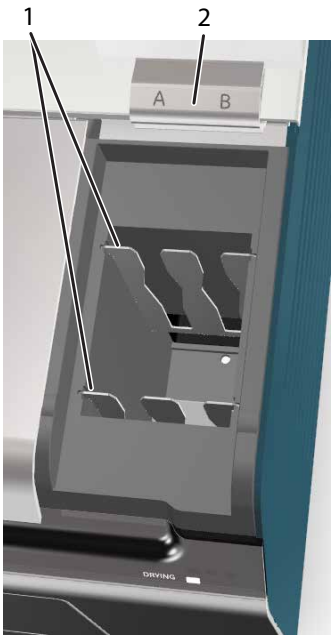
3.3.2 Compartimentos da unidade Western

Peça	Descrição
2	Tampa da câmara de sondas
3	Indicador de posição A e posição B
4	Pinos guia para o cartão PVDF (indicados com círculos cor de laranja)
5	Tampa do compartimento do teste com sondas
6	Janela da tampa da câmara de sondas

Ilustração do compartimento de

secagem

UnidadeA ilustração abaixo mostra o compartimento de secagem da unidade Western.

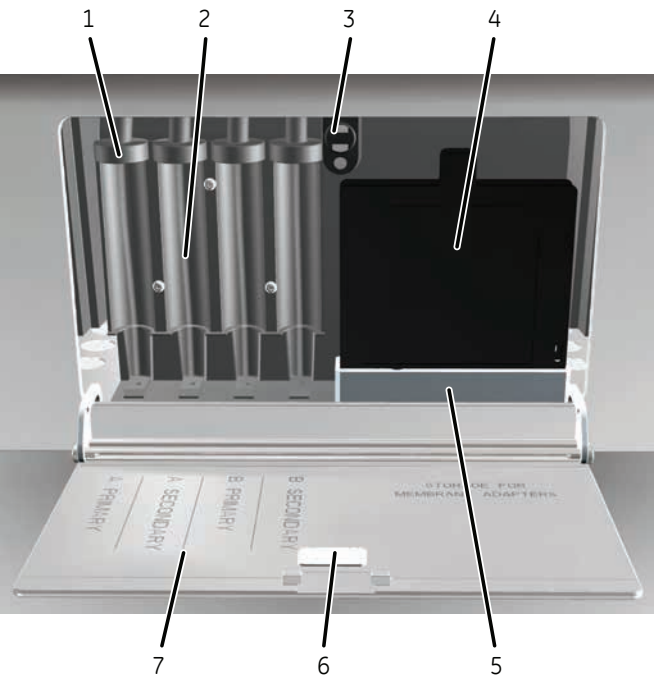


Peça	Descrição
1	Guias de secagem da membrana
2	Indicador de posição A e posição B Localizações

Ilustração do compartimento de anticorpos

unidadeA ilustração abaixo mostra o compartimento de anticorpos no qual são inseridos 15 ml de tubos com solução anticorpos com anticorpos primários e secundários antes do teste com sondas (lado esquerdo). Consulte *Ligue os tubos de solução de anticorpos*, na página 169 para mais informações.

O lado direito do compartimento é usado para armazenar Amersham WB membrane adapters (Adaptadores de membrana).

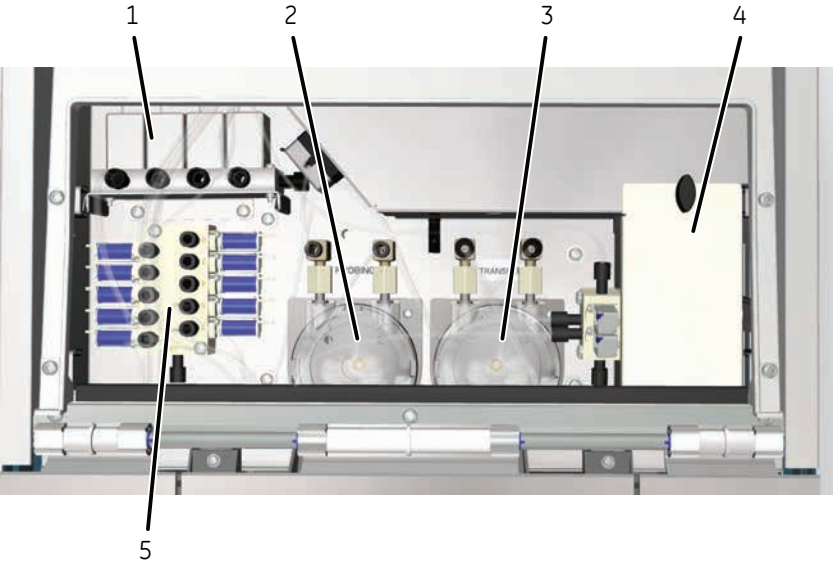


Peça	Descrição
1	Suporte de tubo
2	Tubagem
3	Bloqueio de porta (magnético)
4	Adaptadores de membrana
5	Suporte para os adaptadores de membrana
6	Bloqueio de porta

Peça	Descrição
7	Indicador da posição do tubo com solução anticorpos A PRIMARY , A SECONDARY , B PRIMARY e B SECONDARY .

Ilustração do compartimento de assistência

UnidadeA ilustração abaixo mostra o compartimento de assistência da unidade Western.



Peça	Descrição
1	Bloqueio de válvula de transferência
2	Bomba do teste com sondas
3	Bomba de transferência
4	Tampa do compartimento do filtro de ar
5	Bloqueio de válvula do teste com sondas

3.3.3 Percursos do fluxo líquido

Introdução

Esta secção apresenta os percursos do fluxo líquido da transferência e do teste com sondas na unidade Western e descreve os princípios básicos da operação.

Peça	Descrição
2	Reservatório de transferência
3	Bomba de transferência Para bombear a solução através do percurso do fluxo líquido.
4	Unidade de refrigeração da transferência Para arrefecer o tampão de transferência e mantê-lo à temperatura ambiente.
5	Extravasamento do reservatório de transferência

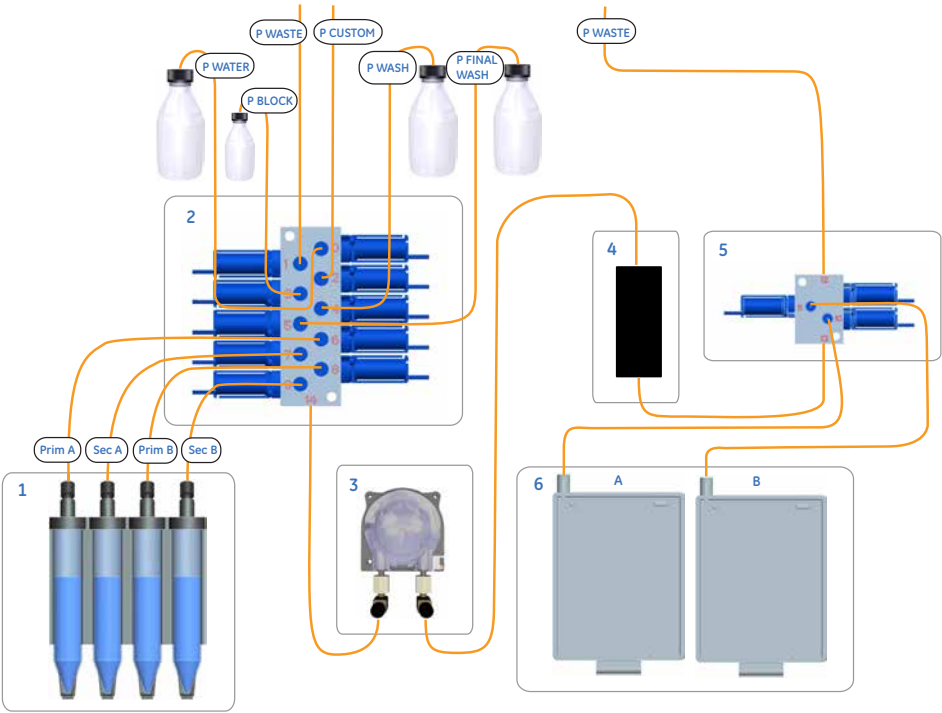
Princípio básico do processo de transferência

Durante a transferência, é efetuada uma transferência electroforética das proteínas separadas no gel em cima da membrana. O princípio básico do processo de transferência é descrito abaixo.

Fase	Descrição
1	Quando o Amersham WB transfer holder(s) (suporte de transferência) tiver sido carregado para o reservatório de transferência, este é enchido com o tampão de transferência (o tubo marcado com T Buffer).
2	Durante a etapa de transferência, o tampão de transferência é bombeado através do reservatório de transferência, unidade de refrigeração de transferência, bomba de transferência e bloqueio de válvula de transferência, fazendo circular o tampão durante a execução. A unidade de refrigeração de transferência mantém o tampão de transferência à temperatura ambiente durante a execução.
3	Após uma execução, e após a remoção dos suportes de transferência, é utilizada água ultrapura para limpar o percurso do fluxo líquido (o tubo marcado com T Water é utilizado para a limpeza).

Ilustração do percurso do fluxo líquido do teste com sondas

A ilustração abaixo mostra um fluxograma detalhado do processo de teste com sondas. O fluxograma mostra as interligações entre os componentes do instrumento. As etiquetas brancas referem-se às etiquetas da tubagem. Os números azuis referem-se aos componentes do instrumento.



A tabela abaixo descreve os componentes no fluxograma:

Peça	Descrição
1	Compartimento de anticorpos com tubos de solução de anticorpos contendo anticorpos primários e secundários para as posições A e B .
2	Bloqueio de válvula do teste com sondas Utilizado para selecionar a solução a ser bombeada através do percurso do fluxo.
3	Bomba do teste com sondas Para bombear a solução através do percurso do fluxo líquido.

Peça	Descrição
4	Sensor de ar Para detetar se existe ar na tubagem. O detetor de ar pausa a execução se um frasco de solução estiver vazio.
5	Válvula do seletor da câmara de sondas Para selecionar se a solução é direcionada para as câmaras de sondas ou das câmaras de sondas para a saída de escoamento de resíduos.
6	Câmaras de sondas

Princípio básico do processo de teste com sondas

No teste com sondas, os anticorpos primários estão ligados às proteínas na membrana e, por sua vez, os anticorpos secundários conjugados com CyDye estão ligados aos anticorpos primários.

O princípio básico do processo de teste com sondas é descrito abaixo.

Fase	Descrição
1	A câmara de sondas é enchida previamente com a primeira solução, como inserido no protocolo do teste com sondas no software (a solução de bloqueio é utilizada como pré-definição). O enchimento prévio da câmara de sondas é iniciado pelo utilizador selecionando a instrução do software apropriada.
2	Os cartões PVDF são inseridos nas câmaras de sondas e são efetuadas as incubações sequenciais (incluindo as etapas de lavagem) da membrana com solução de bloqueio, anticorpos primários e secundários.

3.4 Descrição geral dos acessórios e consumíveis

Introdução

Esta secção fornece uma descrição geral dos acessórios e consumíveis a utilizar com o Amersham WB analyzer. Também contém informação sobre o armazenamento dos consumíveis e informação sobre como encomendar consumíveis.

Acessórios e consumíveis

A tabela abaixo lista os acessórios e consumíveis a utilizar com o instrumento de acordo com a tarefa operacional a ser efetuada. Os acessórios do instrumento são entregues juntamente com o sistema e os consumíveis são encomendados à parte.

Os acessórios a instalar estão descritos em *Secção 4.2 Instalação do hardware, na página 95* e os acessórios para as tarefas de manutenção por parte do utilizador estão descritos em *os acessórios de manutenção, na página 200*.

Para uma descrição detalhada dos acessórios e consumíveis, consulte as secções seguintes.

Tarefa	Consumíveis necessários	Acessórios necessários	Para obter detalhes, consulte...
Pré-etiquetagem de amostras	- Amersham WB Cy5 - Amersham WB labeling buffer (Tampão de etiquetagem) - Amersham WB loading buffer (Tampão de carregamento) - Amersham WB MiniTrap™ kit (opcional)	N/D	Secção 3.5
Execução da electroforese	- Amersham WB molecular weight markers (Marcadores de peso molecular) - Amersham WB gel card (Cartão em gel) - Amersham WB buffer strip (Tira de tampão) - Amersham WB loading buffer - Amersham WB paper comb (opcional) (Pente para papel)	Amersham WB buffer strip holder ¹ (Suporte da tira de tampão)	Secção 3.6

Tarefa	Consumíveis necessários	Acessórios necessários	Para obter detalhes, consulte...
<i>Western etapas do método blot</i>			
Transferência	- Amersham WB gel card da execução da electroforese - Amersham WB PVDF card (cartão PVDF) - Amersham WB transfer paper (Papel de transferência) - Amersham WB sponge (Esponja) - Soluções de transferência preparadas em laboratório (para receitas, consulte <i>Receitas de soluções de transferência, na página 143</i>)	Amersham WB transfer holder ¹ (Suporte de transferência)	Secção 3.7.1
Teste com sondas	- Soluções de anticorpos primários preparadas em laboratório - Anticorpo secundário: Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5 (cabra anti-rato Cy3/Cy5) ou Amersham WB goat anti-rabbit Cy3/Cy5 (cabra anti-coelho Cy3/Cy5) - cartão PVDF da etapa de transferência - Soluções do teste com sondas preparadas em laboratório (para receitas, consulte <i>Receitas para sondas e soluções de anticorpos, na página 168</i>)	Tubos de soluções de anticorpos ¹	Secção 3.7.2
Secagem	cartão PVDF da etapa do teste com sondas	Amersham WB drying holder (Suporte de secagem)	N/D
Exame do cartão PVDF na unidade Elpho & scan	cartão PVDF da etapa de secagem	Amersham WB membrane adapter ¹ (Adaptador de membrana)	Secção 3.7.4

3 Descrição do sistema

3.4 Descrição geral dos acessórios e consumíveis

Tarefa	Consumíveis necessários	Acessórios necessários	Para obter detalhes, consulte...
Outros			
Exame de etiquetas de matriz de dados nas embalagens individuais dos cartões em gel e cartões PVDF (opcional)	N/D	Leitor de etiquetas de matriz (encomende em separado)	Secção 3.8

¹ Incluídos na encomenda do Amersham WB analyzer.

Encomenda de consumíveis

Dependendo das experiências a serem efetuadas, são necessárias diferentes combinações de consumíveis. Está disponível um guia de seleção para formar um kit de consumíveis em www.gelifesciences.com.

Para obter informações sobre a encomenda dos vários consumíveis, consulte *Amersham WB system User Manual*.

Armazenamento de consumíveis

A tabela abaixo resume as condições de armazenamento e do ambiente para os vários consumíveis. A data de validade dos consumíveis está impressa na embalagem.

Consumível	Temperatura de armazenamento	Ambiente
Consumíveis de pré-etiquetagem	-15°C a -30°C	Proteger o conteúdo da luz solar direta. Evitar ciclos repetidos de congelar-descongelar do reagente corante Cy5. O reagente corante Cy5 diluído deve ser utilizado dentro de 30 minutos e não deve ser congelado.

Consumível	Temperatura de armazenamento	Ambiente
Amersham WB molecular weight markers	-15°C a -30°C	Proteger os marcadores (MW) de peso molecular da luz solar direta. Os marcadores MW devem ser sempre armazenados no congelador. Minimize o tempo à temperatura ambiente antes da utilização e evite congelar de novo. Os marcadores MW diluídos no Tampão de carregamento com DTT, podem ser dispensados em alíquotas para uma única utilização, se congelados diretamente após a diluição. As alíquotas não devem ser armazenadas por mais do que uma semana.
Amersham WB gel card	4°C a 8°C	Armazene no refrigerador ou numa sala fria.
Amersham WB buffer strips	4°C a 8°C	Armazene no refrigerador ou numa sala fria.
Amersham WB PVDF card	Temperatura ambiente	Armazene o cartão PVDF na embalagem individual, dentro da caixa na qual é fornecido. Armazene a caixa num local limpo e seco, protegido da luz.
Amersham WB transfer paper	Temperatura ambiente	Armazene os papéis de transferência num local seco, dentro da caixa na qual eles foram entregues. Proteger do pó.
Amersham WB paper comb	Temperatura ambiente	Armazene os pentes para papel num local seco, dentro da caixa na qual eles foram entregues. Proteger do pó.
Amersham WB sponge	Temperatura ambiente	Proteger do pó e da luz solar direta.

3 Descrição do sistema

3.4 Descrição geral dos acessórios e consumíveis

Consumível	Temperatura de armazenamento	Ambiente
Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5 ou Amersham WB anti-rabbit Cy3/Cy5, liofilizado	2°C a 8°C	Proteger os anticorpos secundários da luz.
Anticorpos secundários reconstituídos (reconstituídos em água ultrapura para uma concentração de 1 µg/µl)	Armazenar as alíquotas entre -15°C e -30°C	Proteger os anticorpos secundários reconstituídos da luz. As alíquotas não devem ser armazenadas por mais do que 6 meses. Evitar ciclos repetidos de congelar-descongelar.
Anticorpos primários	Consulte as instruções do fabricante.	Consulte as instruções do fabricante.

3.5 Consumíveis de pré-etiquetagem

Introdução

Os consumíveis de pré-etiquetagem são utilizados para a pré-etiquetagem das amostras de proteínas com um corante fluorescente.

Pré-etiquetagem fluorescente de amostras:

- permite a detecção da proteína total ao examinar o cartão em gel,
- elimina a necessidade de manchar posteriormente o gel.

Quando utilizar a pré-etiquetagem de proteínas

A pré-etiquetagem de proteínas é sempre efetuada antes da etapa de electroforese ao realizar:

- experiências de electroforese,
- Experiências Western com normalização de proteína total.

Consumíveis de pré-etiquetagem

Os consumíveis de pré-etiquetagem são embalados em sacos individuais de papel de alumínio. Cada saco de papel de alumínio contém reagentes de solução suficientes para executar 10 cartões em gel (em que 14 vias/cartão em gel são carregadas com amostras pré-etiquetadas), ou seja, 140 reações de etiquetagem individuais.

A tabela abaixo resume o conteúdo dos consumíveis de pré-etiquetagem.

Consumível de pré-etiquetagem	Conteúdo	Quantidade
Amersham WB Cy5	0,25 mg/ml (aproximadamente 250 pmol/ μ l) corante Cy5 em DMSO	5 recipientes (tampas azuis) 35 μ l Cy5 de solução corante por recipiente (suficiente para dois cartões em gel)
Amersham WB labeling buffer (Tampão de etiquetagem)	Tampão baseado em Tris contendo SDS com pH 8.7 (a 25°C)	5 recipientes (tampas pretas) 0,7 ml de solução de tampão de etiquetagem por recipiente (suficiente para dois cartões em gel)

3 Descrição do sistema

3.5 Consumíveis de pré-etiquetagem

Consumível de pré-etiquetagem	Conteúdo	Quantidade
Amersham WB loading buffer (Tampão de carregamento)	50 mM Tris-Cl, 0,25% (w/v) Cor de laranja G, 4% SDS, 0,5 mM Lisina	5 recipientes (tampas cor de laranja) 0,7 ml de solução de tampão de carregamento por recipiente (suficiente para dois cartões em gel)

Consumível de preparação da amostra

A tabela abaixo descreve o Amersham WB MiniTrap kit.

Consumível de preparação da amostra	Função	Quantidade
Amersham WB MiniTrap kit	O kit é concebido para uma rápida e conveniente limpeza das amostras de proteína (>5000 M _r) contendo substâncias de interferência, por ex. imidazole.	• 30 colunas descartáveis pré-embaladas PD MiniTrap G-25 com meio Sephadex™ G-25 • 1 frasco de 10× Amersham WB labeling buffer (14 ml solução de reserva) • Suporte de coluna integrado, tabuleiro de resíduos e suporte de tubo

3.6 Acessórios e consumíveis para a electroforese

Introdução

São necessários os seguintes acessórios e consumíveis para a electroforese de proteínas:

- Amersham WB buffer strip
- Amersham WB buffer strip holder
- Amersham WB molecular weight markers
- Amersham WB gel card
- Amersham WB paper comb, se for efetuada a limpeza do poço de amostras
- Amersham WB loading buffer (consulte *Secção 3.5 Consumíveis de pré-etiquetagem, na página 65* para mais informações sobre o Tampão de carregamento)

Nesta secção

Esta secção contém as seguintes subsecções:

Secção	Consulte página
3.6.1 Amersham WB molecular weight markers	68
3.6.2 Amersham WB gel card	70
3.6.3 Amersham WB buffer strip e Amersham WB buffer strip holder	73
3.6.4 Amersham WB paper comb	75

3.6.1 Amersham WB molecular weight markers

Introdução

Amersham WB Os molecular weight markers são uma mistura de nove proteínas nativas e recombinantes, M_r : 10.000 a 225.000, etiquetadas com Cy3 e Cy5, para a determinação do peso molecular de proteínas em cartões em gel examinados e cartões PVDF.

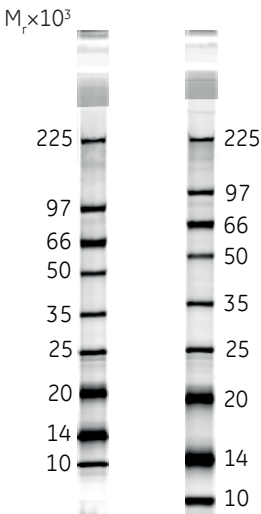
O software calcula as curvas de calibração do peso molecular. Quando são utilizadas duas curvas de calibração de peso molecular, os dados interpolados a partir das curvas são usados para criar curvas de calibração específicas da via de amostras. Os pesos moleculares de todas as bandas detetadas em cada via são assim calculados.

Conteúdo

Cada embalagem de Amersham WB molecular weight markers contém solução para processar 10 cartões em gel (em que 2 vias/cartão em gel são carregadas com Amersham WB molecular weight markers).

Ilustração de marcadores MW

A ilustração abaixo apresenta os tamanhos dos Amersham WB molecular weight markers separados num cartão em gel gradiente (imagem esquerda) e um cartão em gel homogéneo (imagem direita):



Proteínas de marcadores MW

A tabela abaixo apresenta as proteínas que estão incluídas:

Proteína	Peso molecular ($M_r \times 10^3$)
Proteína recombinante	225
Fosforilase b, músculo de coelho	97
Albumina, soro bovino	66
Proteína recombinante	50
Proteína recombinante	35
Proteína recombinante	25
Inibidor de tripsina, soja	20
Alfa-lactalbumina, leite bovino	14
Proteína recombinante	10

3.6.2 Amersham WB gel card

Introdução

Esta secção descreve os detalhes de cartões em gel.

Tipos de cartões em gel

Existem dois tipos de cartões em gel:

- Cartão em gel homogéneo: Amersham WB gel card 14, 13.5%
- Cartão em gel gradiente: Amersham WB gel card 14, 8-18%

Composição do gel

Os géis são pré-moldados na cassete do cartão em gel. Os géis são géis de poliacrilamida/bisacrilamida que contêm um tampão Tris acetato.

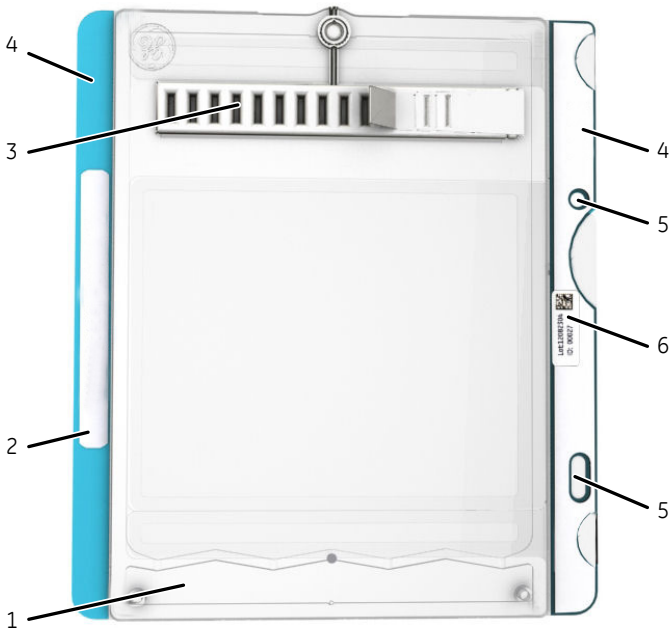
Resolução de separação de proteínas

A tabela abaixo lista a resolução de separação de proteínas para os tipos de cartão em gel:

Tipo de cartão em gel	Resolução de separação, $M_r \times 10^3$
Amersham WB gel card 14, 13.5%, Homogéneo	10 a 225
Amersham WB gel card 14, 8-18%, Gradiente	• 6 a 225 (proteínas pré-etiquetadas) • 3,5 a 225 experiências (Western, deteção de anticorpos)

Ilustração da parte da frente de um cartão em gel

A ilustração abaixo mostra o cartão em gel com a parte da frente virada para cima:



Peça	Descrição
1	Superfície de escrita para as suas anotações Nota: <i>Utilize sempre um lápis para escrever as anotações.</i> As anotações também podem ser inseridas no software.
2	Etiqueta com tipo de cartão em gel
3	Tampa do poço de amostras deve ser removida depois da tampa de vedação na unidade do Elpho & scan estar fechada, antes de aplicar as amostras.
4	Pegas do gel para facilitar o manuseamento do gel quando este for removido do seu suporte, para efetuar o Western blotting.

Peça	Descrição
5	Orifícios guia para a colocação correta dos cartões em gel no carregador Elpho & scan e carregador de transferência.
6	Etiqueta com Etiqueta de matriz de dados, Número de lote e ID

Ilustração da parte de trás de um cartão em gel

A ilustração abaixo mostra o cartão em gel com a parte de trás virada para cima:



Peça	Descrição
1	Películas protetoras são removidas antes da electroforese para permitir o contacto entre o gel e as tiras de tampão.
2	Película protetora é removida ao preparar a sanduíche de transferência (apenas relevante em experiências Western).

3.6.3 Amersham WB buffer strip e Amersham WB buffer strip holder

Introdução

Os suportes de tiras de tampão suportam as tiras de tampão no seu lugar durante uma execução de electroforese. Os suportes de tiras de tampão têm elétrodos integrados, que fornecem contacto entre o elétrodo e a tira de tampão, proporcionando uma corrente elétrica para a execução.

As tiras de tampão são carregadas nos suportes antes de iniciar uma execução e são eliminadas após a execução. O formato do suporte ajuda o utilizador a colocar as tiras de tampão nos suportes e a colocar os suportes na unidade do Elpho & scan.

Consulte *Preparativos antes de iniciar a electroforese*, na página 131 para mais informações.

Tampão utilizado nas tiras de tampão

O tampão utilizado nas tiras de tampão é Tris Tricine.

Ilustração das tiras de tampão

A ilustração abaixo apresenta uma tira de tampão.



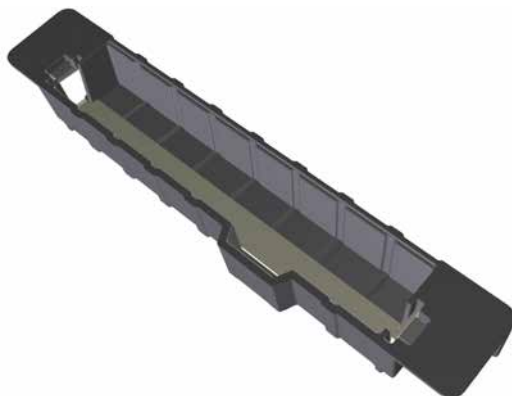
3 Descrição do sistema

3.6 Acessórios e consumíveis para a electroforese

3.6.3 Amersham WB buffer strip e Amersham WB buffer strip holder

Ilustração dos suportes de tiras de tampão

A ilustração abaixo mostra um suporte de tiras de tampão.



3.6.4 Amersham WB paper comb

Introdução

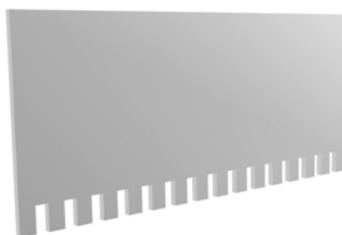
O pente para papel é utilizado para limpar os poços de amostras quando as proteínas migraram para o gel durante alguns minutos. A limpeza dos poços de amostras é recomendada para remover o corante em excesso quando as amostras pré-etiquetadas são utilizadas. Isto reduz o contexto, melhorando a deteção e quantificação de proteínas pouco abundantes (<1 ng/banda) e proteínas de baixo peso molecular ($M_r < 40.000$).

A limpeza dos poços de amostras irá melhorar a resolução das bandas no geral, também no caso de amostras não etiquetadas de concentrações elevadas de proteína ou grandes volumes de amostra.

Para mais informações sobre como utilizar o pente para papel, consulte *Iniciar e supervisionar a electroforese e o exame de cartões em gel*, na página 138.

Ilustração do pente para papel

A ilustração abaixo apresenta um pente para papel.



3.7 Acessórios e consumíveis para as etapas do método Western blot.

Introdução

Esta secção descreve os acessórios e consumíveis utilizados na transferência de proteínas do gel para a membrana, no teste com sondas da membrana com anticorpos primários e secundários e no exame dos cartões PVDF .

Nesta secção

Esta secção contém as seguintes subsecções:

Secção	Consulte página
3.7.1 Acessórios e consumíveis para transferência	77
3.7.2 Anticorpos secundários - teste com sondas	82
3.7.3 Suporte de secagem – PVDF secagem de cartões	84
3.7.4 Adaptador de membrana – PVDF examinar cartão	85

3.7.1 Acessórios e consumíveis para transferência

Introdução

Esta secção descreve:

- Amersham WB transfer holder (acessório)
 - Amersham WB PVDF card (consumível)
 - Amersham WB transfer paper (consumível)
 - Amersham WB sponge (consumível)
-

Amersham WB transfer holder

O suporte de transferência é utilizado durante a transferência. Contém a sanduíche de transferência (esponja, papel de transferência, cartão em gel, cartão PVDF, papel de transferência e esponja) preparada antes de iniciar a transferência. As proteínas separadas são transferidas do gel para a membrana durante a execução da transferência.

Os pinos guia no suporte de transferência garantem que o cartão em gel e o cartão PVDF estão posicionados corretamente ao preparar a sanduíche de transferência.

Ao utilizar o rolo integrado (ao mover o rolo por cima da sanduíche nos rastros do rolo), as bolhas de ar são removidas e será aplicada uma pressão reprodutível no cartão em gel e no cartão PVDF para um processo de transferência equilibrado.

Consulte *Inicie a montagem da sanduíche de transferência.*, na página 152 para mais informações sobre como preparar a sanduíche de transferência.

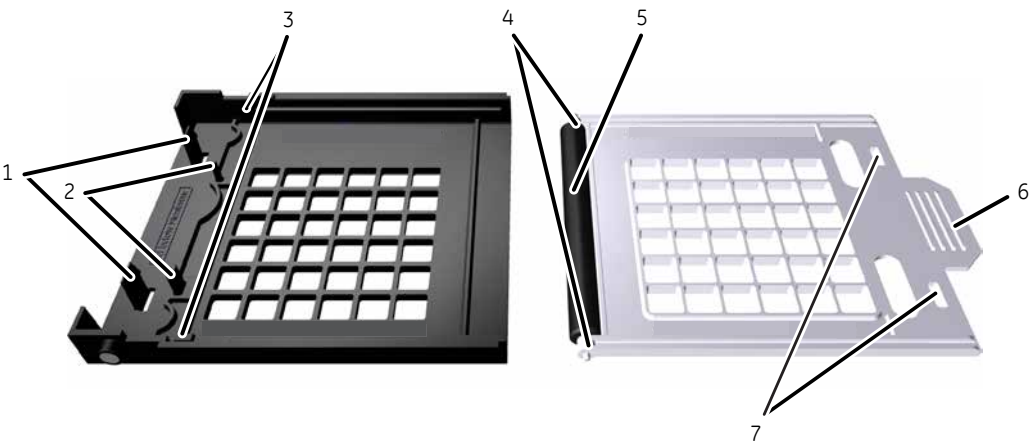
Ilustração do suporte de transferência quando fechado

A imagem abaixo mostra o suporte de transferência quando está fechado:



Ilustração do suporte de transferência quando desmontado

A imagem abaixo mostra o suporte de transferência quando está desmontado:



A tabela abaixo descreve as diferentes peças do suporte de transferência:

Peça	Função
Peça do fundo (tampa preta)	

3 Descrição do sistema

3.7 Acessórios e consumíveis para as etapas do método Western blot.

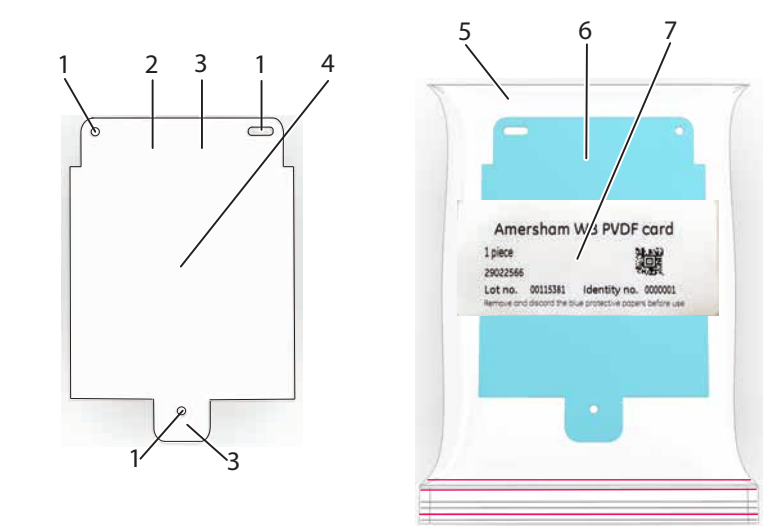
3.7.1 Acessórios e consumíveis para transferência

Peça	Função
1	Trincos
2	Pinos guia para o cartão em gel e cartão PVDF
3	Rastros do rolo (para os pinos do rolo)
Peça superior (tampa branca)	
4	Pinos do rolo (encaixar nos rastros do rolo para montar as tampas)
5	Rolo
6	Manípulo
7	Orifícios para os trincos

Amersham WB PVDF card

Na etapa de transferência, as proteínas são transferidas do gel para a área de "blotting" do cartão PVDF. O cartão PVDF é uma membrana PVDF de baixa fluorescência.

A ilustração abaixo apresenta as diferentes peças do cartão PVDF e da embalagem individual do cartão PVDF.



A tabela abaixo descreve as diferentes peças do cartão PVDF e da embalagem individual do cartão PDVF.

3 Descrição do sistema

3.7 Acessórios e consumíveis para as etapas do método Western blot.

3.7.1 Acessórios e consumíveis para transferência

Peça	Descrição
1	Orifícios guia Nota: <i>Os orifícios guia ajudam a colocar corretamente o cartão no suporte de transferência, na câmara de sondas, no suporte de secagem e no carregador Elpho & scan.</i>
2	Superfície de escrita para as suas anotações Nota: <i>Utilize sempre um lápis para escrever as anotações.</i> As anotações também podem ser inseridas no software.
3	Pegas do cartão
4	Área de "blotting"
5	Embalagem individual do cartão PDVF
6	cartão PDVF com papéis protetores
7	Etiquetar com Código de produto, Número de lote, Número de identificação e Etiqueta de matriz de dados (contém Código de produto, Número de lote e Número ID)

Amersham WB transfer paper

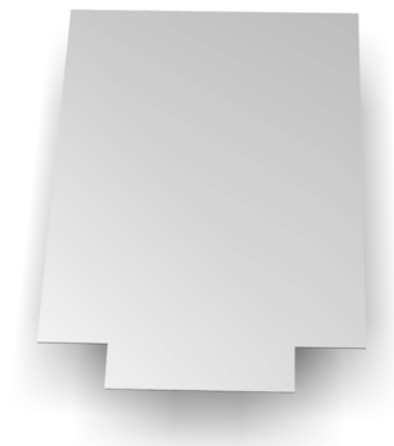
Os papéis de transferência são utilizados na preparação da sanduíche de transferência.

A ilustração abaixo mostra um papel de transferência:

3 Descrição do sistema

3.7 Acessórios e consumíveis para as etapas do método Western blot.

3.7.1 Acessórios e consumíveis para transferência



Amersham WB sponge

São utilizadas duas esponjas na preparação da sanduíche de transferência. As esponjas devem ser substituídas após cada execução.

A ilustração abaixo mostra uma esponja.



3.7.2 Anticorpos secundários - teste com sondas

Introdução

As proteínas alvo são identificadas no teste com sondas da membrana com anticorpos primários e anticorpos secundários específicos da espécie, conjugados com CyDye. Ao utilizar duas espécies diferentes de anticorpos primários (rato e coelho) e um anticorpo secundário conjugado com Cy3 e um anticorpo secundário conjugado com Cy5, pode ser efetuada uma experiência multiplex para detetar duas proteínas simultaneamente na mesma membrana.

Estão disponíveis as seguintes variantes de anticorpos secundários conjugados com CyDye:

- Amersham WB goat anti-mouse Cy3 (cabra anti-rato Cy3)
- Amersham WB goat anti-rabbit Cy3 (cabra anti-coelho Cy3)
- Amersham WB goat anti-mouse Cy5 (cabra anti-rato Cy5)
- Amersham WB goat anti-rabbit Cy5 (cabra anti-coelho Cy5)

CyDye (conjugado com os anticorpos secundários)

O corante CyDye juntamente com os anticorpos secundários têm os seus próprios comprimentos de onda de excitação e de emissão nos espectros de luz visíveis e diferenciam-se uns dos outros através do seu espectro, o que resulta numa diafonia mínima, consulte a tabela abaixo.

CyDye	Comprimento de onda da excitação	Comprimento de onda de emissão
Cy3	550 nm	570 nm
Cy5	649 nm	670 nm

Após a excitação, os sinais de emissão fluorescentes resultantes são capturados utilizando o scanner fluorescente de canais múltiplos, na unidade do Elpho & scan .

O CyDye apresenta uma elevada resistência à luz. O sinal da membrana testada com sondas fica estável durante >3 meses, se for armazenada no escuro.

Preparação e armazenamento dos anticorpos secundários reconstituídos

Reconstitua os anticorpos secundários em 150 µl de água ultrapura por recipiente, para uma concentração de 1 µg/µl. Agite o vórtice e centrifugue os anticorpos secundários reconstituídos.

É recomendado armazenar os anticorpos secundários em alíquotas entre -15°C e -30°C, e proteger da luz. Evitar ciclos repetidos de congelar-descongelar.

3 Descrição do sistema

3.7 Acessórios e consumíveis para as etapas do método Western blot.

3.7.3 Suporte de secagem – PVDF secagem de cartões

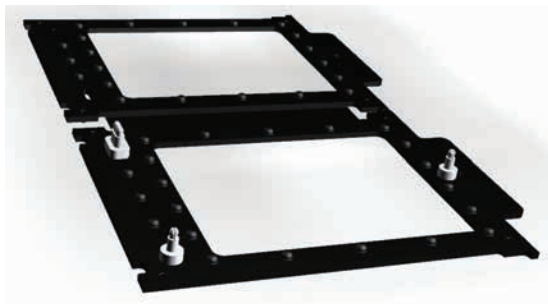
3.7.3 Suporte de secagem – PVDF secagem de cartões

Introdução

O Amersham WB drying holder (suporte de secagem) orienta e fixa o cartão PVDF na posição correta para o melhor resultado de secagem possível.

Ilustração do suporte de secagem

As ilustrações abaixo apresentam o suporte de secagem quando está fechado (em cima) e o suporte de secagem quando está aberto (em baixo).



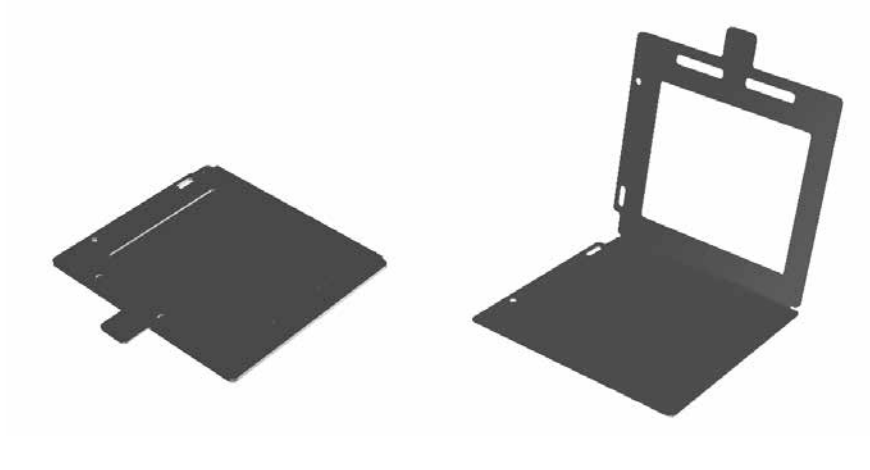
3.7.4 Adaptador de membrana – PVDF examinar cartão

Introdução

O Amersham WB membrane adapter (adaptador de membrana) orienta e fixa o cartão PVDF na posição correta para o melhor exame possível e detecção na unidade do Elpho & scan.

Ilustração do adaptador de membrana

As ilustrações abaixo apresentam o adaptador de membrana quando está fechado (à esquerda) e o adaptador de membrana quando está aberto (à direita):



3.8 Outros acessórios

Leitor de etiquetas de matriz

O leitor de etiquetas de matriz é utilizado para introduzir informações do cartão em gel e cartão PVDF (código do produto, ID e número do lote) no software através da leitura das etiquetas de matriz de dados na etiqueta individual do cartão em gel e do cartão PVDF. Tem de ser encomendado separadamente (consulte *Informação da encomenda* no Amersham WB system User Manual).

A ilustração abaixo apresenta o leitor de etiquetas de matriz.



Suporte do filtro de admissão

Os suportes dos filtros de admissão, com filtros de admissão, são fixos nos tubos de entrada que estão inseridos nos frascos no suporte para frascos. As partículas são filtradas pelo filtro de admissão e o próprio suporte do filtro de admissão é um peso que suporta os tubos colocados na base dos frascos.

A ilustração abaixo apresenta um suporte do filtro de admissão, com um filtro de admissão instalado e fixo à tubagem.



Suportes de tubagem

Para compensar as tensões quando a tubagem é colocada nos frascos e para evitar a queda dos frascos quando o nível de líquido diminui, deve ser fixo na tubagem um suporte de tubagem. Consulte a ilustração abaixo:



Acessórios adicionais a serem instalados pelo utilizador

Os elétrodos de transferência e os guias de secagem de membrana têm de ser instalados pelo utilizador.

Consulte *Instalar elétrodos de transferência*, na página 98 e *Instale os guias de secagem da membrana no compartimento de secagem*, na página 106 para mais informações.

Acessórios para manutenção pelo utilizador

Para uma descrição de acessórios para manutenção pelo utilizador, consulte os *acessórios de manutenção*, na página 200.

3.9 Descrição geral do software

Introdução

Esta secção fornece uma descrição geral do Amersham WB software.

Ilustração do ecrã inicial do software

No ecrã inicial do software é possível criar novas experiências e abrir experiências previamente guardadas. Para informações sobre a forma de criar e configurar uma experiência, consulte *Criar e configurar uma experiência, na página 122*.

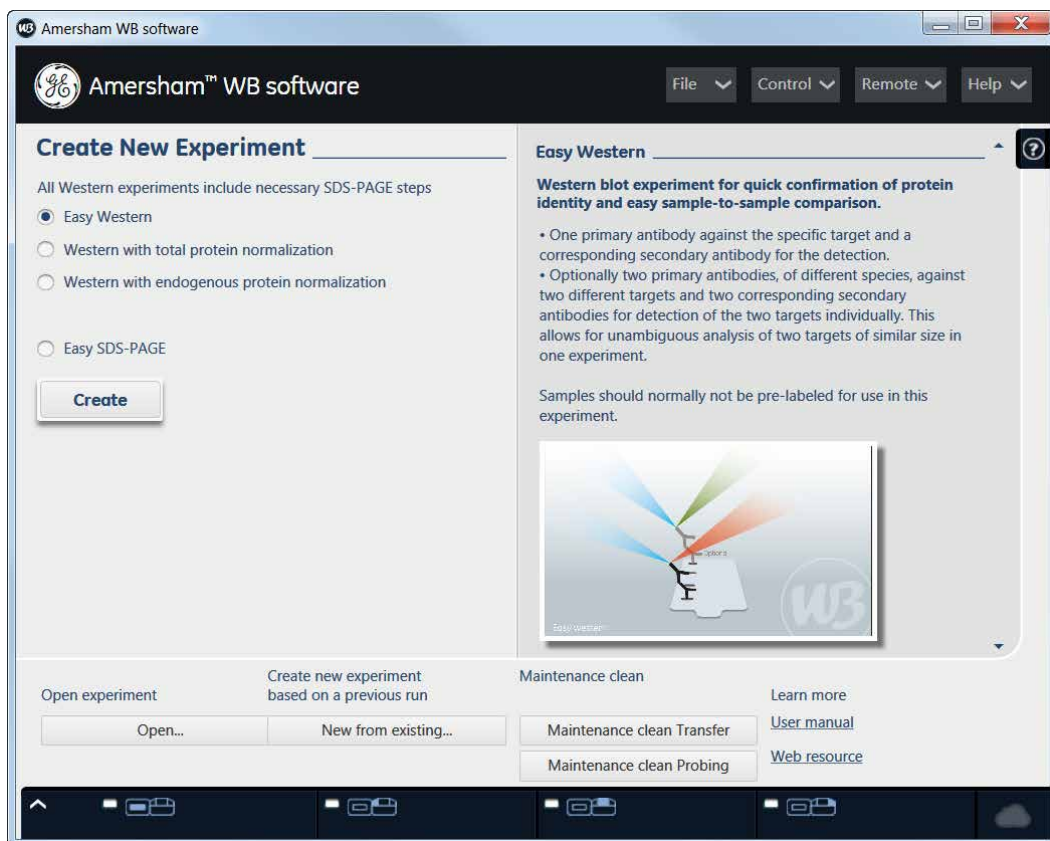
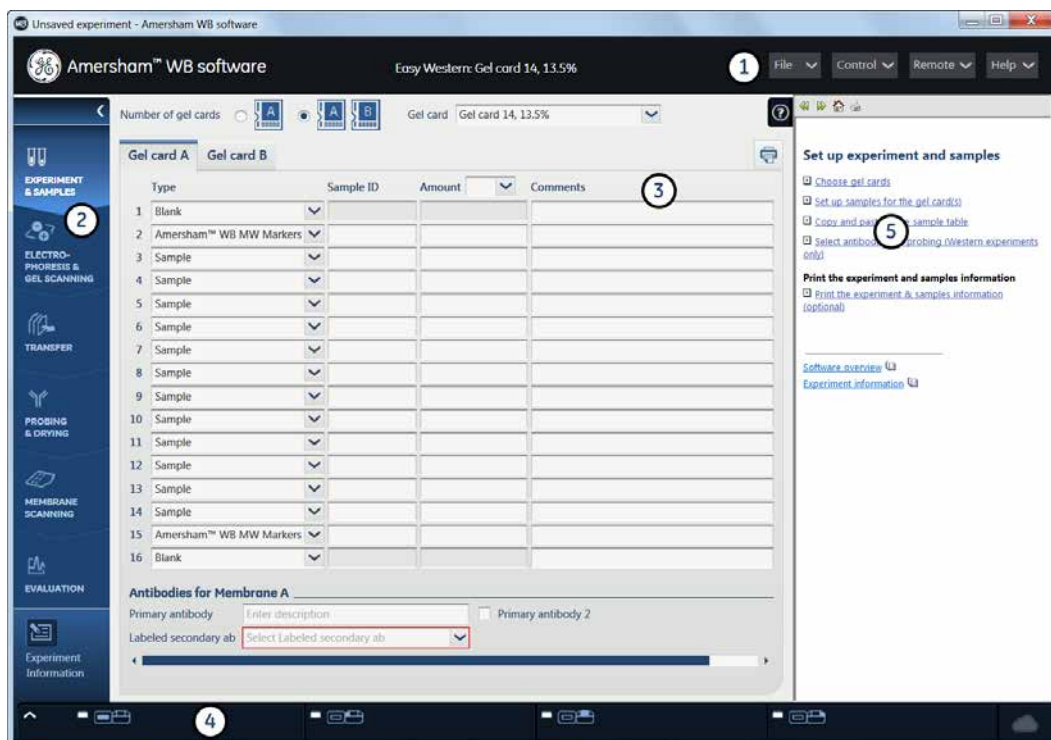


Ilustração do ecrã principal do software

A ilustração abaixo apresenta o ecrã principal do software para uma experiência Western.



Área	Descrição
1	Barra de menu A barra de menu consiste em quatro menus: • File: Criar, abrir e guardar experiências. Imprimir informação e sair do software. • Control: Abortar execução, esvaziar transferência e câmara de sondas, iniciar limpeza da transferência e sondas de percursos do fluxo. • Remote: Ligar e desligar ao acesso remoto ao instrumento. Recuperar códigos de acesso ao instrumento e gerir utilizador remoto. Editar a configuração da ligação remota. Nota: Apenas visível quando um instrumento é ligado. • Help: Gerar relatórios do sistema. Abrir o painel de ajuda, o manual do utilizador e a About Amersham WB caixa de diálogo.

3 Descrição do sistema

3.9 Descrição geral do software

Área	Descrição
2	Painel de workflow O painel de workflow apresenta os diferentes passos do workflow no software para uma experiência. É possível avançar e recuar para ver e editar informações e parâmetros nos diferentes passos do workflow antes de iniciar uma execução (por ex., electroforese, transferência, testes com sondas, secagem ou exame de membrana). É sempre possível recuar e editar texto em campos de informação nos diferentes passos do workflow durante e após uma execução. Por exemplo, a mesa de amostras pode ser preenchida após iniciar uma electroforese. Nota: <i>Para uma experiência de electroforese, os passos do workflow TRANSFER, PROBING & DRYING e MEMBRANE SCANNING são regulados. Estes passos estão apenas incluídos em experiências Western.</i>
3	Área de trabalho A área de trabalho apresenta a informação de texto, parâmetros e controlos do passo de workflow atualmente apresentado.
4	Painel de estado do instrumento O painel de estado do instrumento indica o estado da ligação do instrumento. Quando o instrumento está ligado, é apresentado o estado de cada módulo de hardware (electroforese e compartimento de exame, reservatório de transferência, compartimento das sondas e compartimento de secagem) e o progresso de qualquer execução nos módulos. Podem ser abertas várias experiências ao mesmo tempo. Cada experiência requer a abertura de uma nova instância do software. O painel de estado do instrumento apresentará o estado do instrumento para todas as experiências abertas. Um módulo de hardware pode ser utilizado por uma experiência de cada vez. Isto significa que podem ser executados paralelamente quatro passos de workflow diferentes a partir de quatro experiências diferentes.
5	Painel de ajuda O painel de ajuda apresenta as instruções de ajuda para o ecrã atualmente visualizado na área de trabalho. Ao seleccionar um novo passo no workflow, as instruções de ajuda são atualizadas automaticamente para apresentar a ajuda para o ecrã ativo. Sugestão: <i>Para visualizar o manual do utilizador com informações detalhadas sobre o sistema, seleccione Help:View user manual na barra de menu, ou prima Ctrl+F1.</i>

4 Instalação

Sobre este capítulo

Este capítulo descreve a instalação do Amersham WB system.

Neste capítulo

Este capítulo contém as seguintes secções:

Secção	Consulte página
4.1 Preparação do local	92
4.2 Instalação do hardware	95
4.3 Instalação do software	109

4.1 Preparação do local

O porquê da preparação do local.

O local do laboratório deve ser planeado e preparado antes de instalar o Amersham WB system. As especificações de desempenho do sistema apenas podem ser atingidas se o ambiente do laboratório preencher os requisitos indicados nesta secção. Siga sempre os regulamentos de segurança locais.

Requisitos da sala



ADVERTÊNCIA

Coloque o Amersham WB analyzer numa sala com ventilação por exaustão caso seja usado metanol ou outros químicos que requeiram ventilação.

As unidades do instrumento não devem ser expostas à luz direta do sol. O pó na atmosfera deverá ser reduzido ao mínimo.

Os intervalos de humidade e temperatura permitidos estão especificados na tabela abaixo.

Parâmetro	Intervalo permitido
Temperatura ambiente, funcionamento	15 °C a 32 °C Para um máximo desempenho: 16°C a 28°C
Temperatura ambiente, armazenamento e transporte	-25°C a +60°C
Humidade relativa, funcionamento	20% a 80%, sem condensação Para um máximo desempenho: 20% a 70%, sem condensação
Altitude	Máximo 2000 m
Ambiente	Apenas utilização interna

Requisitos de espaço

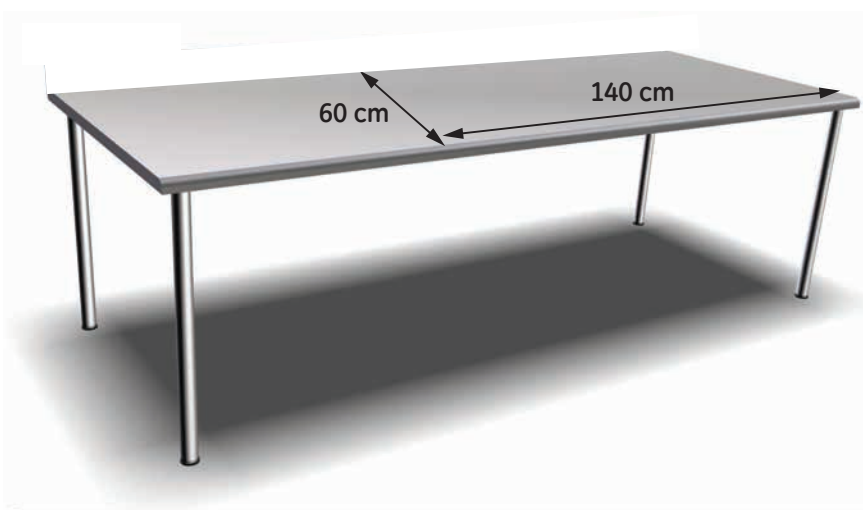


ADVERTÊNCIA

Não bloqueie o acesso ao interruptor e ao cabo de alimentação. O interruptor de alimentação deverá ter sempre um acesso fácil. O cabo de alimentação com ficha deverá ser sempre fácil de desligar.

As unidades do instrumento devem ser colocadas numa bancada de laboratório. A bancada deve estar limpa, ser plana, nivelada e estável para suportar o peso do Amersham WB system (unidades do instrumento: 45 kg + peso do computador portátil e dos líquidos colocados na unidade Western).

Para saber os requisitos de espaço, veja abaixo. Para ventilação, deixe pelo menos 10 cm de espaço atrás dos instrumentos. O espaço necessário para as duas unidades é de 90 cm. No entanto, é recomendado um espaço de 140 cm na bancada, para permitir preparar o reagente, manusear o cartão em gel, etc.



Requisitos de alimentação

Consulte Secção 7.1 Especificações do sistema, na página 214.

Requisitos do computador

Parâmetro	Dados
Sistema operativo	Windows 7 Professional, 32-bit or 64-bit, versão em Inglês
Navegador da Internet	Windows Internet Explorer 8 ou superior
Resolução do ecrã	1280 × 800 de resolução ou superior
Desempenho	Mínimo: 2 GB de memória física Recomendado: 4 GB de memória física

Nota: *O computador deverá ser instalado e utilizado de acordo com as instruções e especificações fornecidas pelo fabricante do mesmo.*

4.2 Instalação do hardware

Desembalar o Amersham WB analyzer

Consulte *Amersham WB analyzer Instruções para Desembalar*.

Coloque as unidades do instrumento em cima da bancada



ADVERTÊNCIA

Certifique-se de que o sistema é colocado numa bancada plana e estável com espaço adequado para a ventilação.



ADVERTÊNCIA

Não bloqueie o acesso ao interruptor e ao cabo de alimentação. O interruptor de alimentação deverá ter sempre um acesso fácil. O cabo de alimentação com ficha deverá ser sempre fácil de desligar.



ATENÇÃO

Equipamento de protecção individual (EPI). Sempre que embalar, desembalar, transportar ou deslocar o sistema, usar:

- Calçado de protecção, de preferência com revestimento em folha de aço
- Luvas de trabalho, de protecção contra extremidades afiadas.
- Óculos de protecção

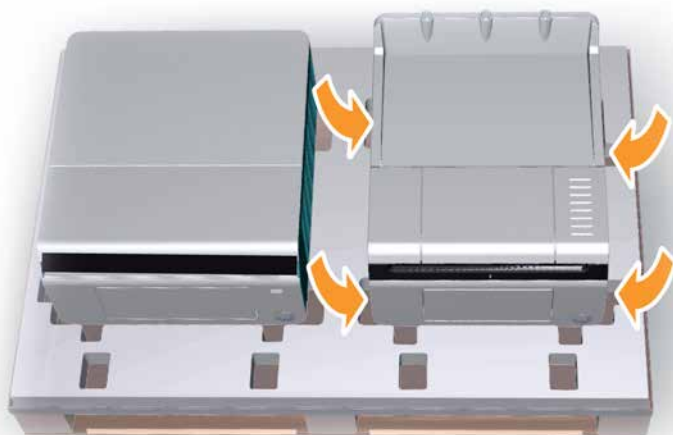


ATENÇÃO

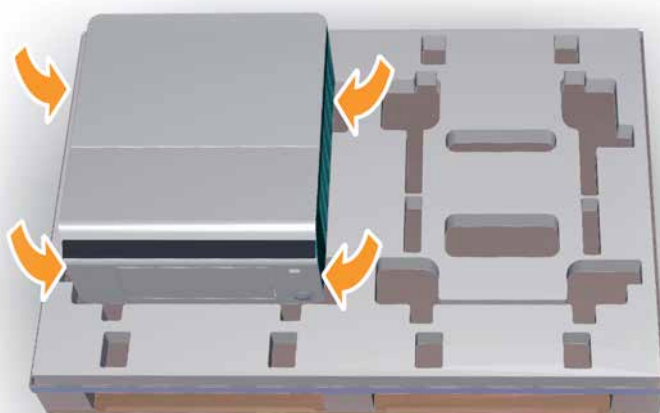
Objecto pesado. São necessárias duas pessoas para levantar os instrumentos em segurança.

Passo	Ação
-------	------

- | | |
|---|--|
| 1 | Levante as unidades do instrumento com as mãos, usando o espaço de elevação ao lado das unidades. Certifique-se de que as unidades estão colocadas numa bancada plana e estável. |
| 2 | Levante a primeira unidade do instrumento. Utilize a pega por baixo e ao lado do instrumento nas cavidades de espuma. Coloque-o numa bancada do laboratório. |



- | | |
|---|---|
| 3 | Levante a outra unidade do instrumento e coloque-o numa bancada do laboratório. |
|---|---|



- | Passo | Ação |
|-------|---|
| 4 | <p>Para permitir uma boa ventilação, a unidade Elpho & scan deve ser colocada à esquerda e a unidade Western deve ser colocada à direita. Para ventilação, deixe pelo menos 10 cm de espaço atrás dos instrumentos.</p> <p>Não bloqueie o acesso ao interruptor e ao cabo de alimentação.</p> |
| 5 | <p>Ajuste os pés para nivelar as unidades na horizontal. Isto é particularmente importante para a unidade Western.</p> |
| 6 | <p>Se o fabricante não colocar restrições, e se o computador for um computador portátil, o computador pode ser colocado em cima da unidade Elpho & scan. Consulte as especificações do computador relativas ao ambiente.</p> <p>Se for utilizado um computador de bancada, o monitor e o teclado podem ser colocados em cima da unidade Elpho & scan. A unidade do sistema do computador não deve ser colocada em cima.</p> |



Remova a segurança de transporte da unidade Elpho & scan

De forma a proteger os componentes frágeis do scanner da unidade Elpho & scan está incluída uma segurança de transporte.

Remova a segurança de transporte com cuidado antes de ligar a alimentação.



Instalar elétrodos de transferência



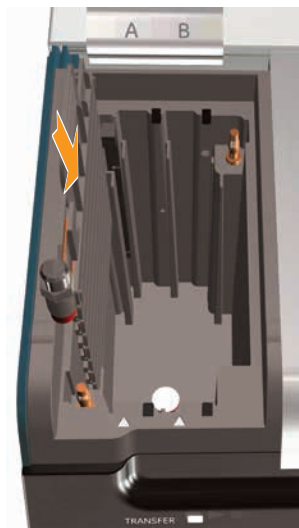
ADVERTÊNCIA

Desligue a alimentação. Desligue sempre a alimentação da unidade do instrumento antes de substituir qualquer componente na mesma, a menos que seja indicado o contrário na documentação do utilizador.

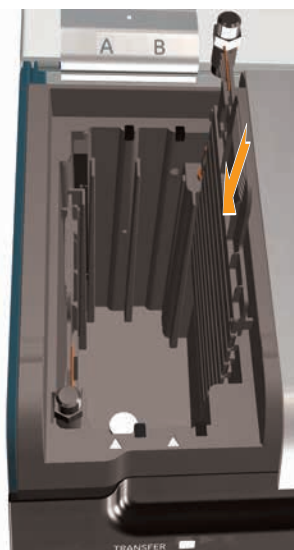
Passo	Ação
1	Abra a tampa do reservatório de transferência.

Passo	Ação
-------	------

- | | |
|---|---|
| 2 | Insira o elétron de transferência esquerdo na extremidade esquerda do reservatório de transferência e pressione para baixo. |
|---|---|



- | | |
|---|---|
| 3 | Insira o elétron de transferência direito na extremidade direita do reservatório de transferência e pressione para baixo. |
|---|---|



- | | |
|---|---|
| 4 | Feche a tampa do reservatório de transferência. |
|---|---|

Ligue as unidades do instrumento ao computador e ligue os cabos de alimentação.



ADVERTÊNCIA

Ligação à terra de proteção e cabo de alimentação.

O Amersham WB analyzer deve ser sempre ligado a uma tomada de alimentação com ligação à terra.

Utilize apenas cabos de alimentação com 3 fios autorizados, fornecidos ou aprovados pela GE, ou em conformidade com todos os requisitos elétricos locais aplicáveis.



ADVERTÊNCIA

Tensão de alimentação. Certifique-se de que a tensão de alimentação na tomada da parede corresponde à indicação no instrumento, antes de ligar o cabo de alimentação.

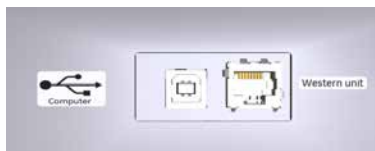


AVISO

Qualquer computador utilizado com o equipamento deverá cumprir a IEC/EN/UL/CSA 60950-1 ou outros regulamentos de segurança. Deverá ser instalado e utilizado de acordo com as instruções do fabricante.

Passo	Acção
-------	-------

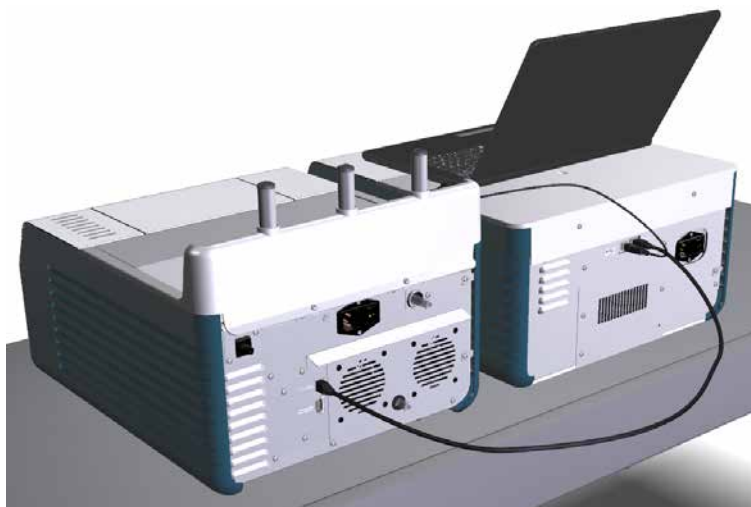
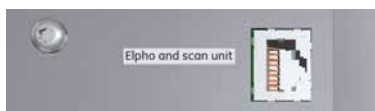
- | | |
|---|---|
| 1 | Ligar o computador à unidade Elpho & scan (contacto: Computer) utilizando o cabo USB fornecido. |
|---|---|



Nota:

É recomendado desativar o modo hibernar do computador ou configurar para 3 horas, quando estiver ligado ao Amersham WB analyzer. Ao hibernar, a ligação ao acesso remoto do instrumento será interrompida, o que significa que o estado da execução não será enviado até o computador estar ativo novamente.

- | | |
|---|---|
| 2 | Ligue a unidade Elpho & scan (contacto: Western unit) com a unidade Western (contacto: Elpho and scan unit) utilizando o cabo Ethernet fornecido. |
|---|---|



Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|--|
| 3 | Ligar cabos de alimentação aos conectores dos cabos de alimentação das unidades. |
|---|--|



- | | |
|---|--|
| 4 | Ligue os cabos de alimentação a uma tomada de parede.
Consulte Secção 7.1 Especificações do sistema, na página 214 para mais informações sobre tensão e frequência. |
|---|--|

Nota: Não ligue os interruptores da alimentação eléctrica antes de efetuar todas as conexões.

Montar as torres de tubagem da unidade Western

As torres de tubagem para a tubagem da unidade Western não se encontram montadas na embalagem de entrega e devem ser montadas pelo utilizador.

Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|---|
| 1 | Abra o saco plástico com as torres e a tubagem. |
|---|---|

Passo Acção

- 2 Pressione cada torre na abertura e rode-a para a direita até encaixar com um clique.

A tubagem deve ser instalada como se segue:

Posição da torre (visto da parte da frente do instru- mento)	Tubagem
Esquerda	T buffer e T water
Centro	P water, P bloque P wash
Direita	P Final washe P Custom

Nota:

Tenha cuidado para não remover as etiquetas da tubagem ao montar as torres.



Anexe os suportes da tubagem

Para compensar a tensão ao colocar a tubagem nos frascos e para evitar a queda dos frascos quando os níveis de líquido descem, os suportes da tubagem devem ser anexados a toda a tubagem.

Nota: Os suportes da tubagem devem ser montados em toda a tubagem antes dos filtros de admissão serem anexados.

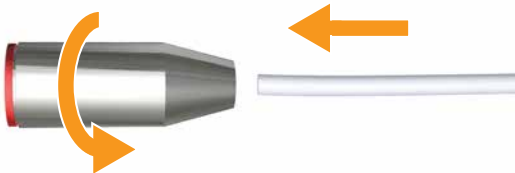
Passo	Acção
1	Insira uma tubagem dentro do orifício do suporte de tubagem.
2	Continue a inserir a extremidade aberta da tubagem no encaixe do suporte de tubagem.

Nota:
Certifique-se de que as etiquetas da tubagem ainda estão fixas à tubagem.
Não é necessário colocar a etiqueta no interior do suporte de tubagem.



Anexe os filtros de admissão à tubagem

Insira a tubagem no suporte do filtro com o filtro de admissão e rode o suporte do filtro para apertar a tubagem.



Coloque a tubagem de escoamento e excedentes



ATENÇÃO

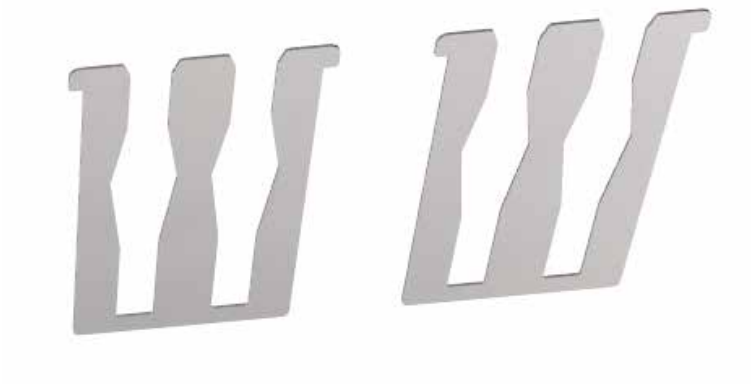
A tubagem de escoamento e excedentes deve ser apertada corretamente para evitar o risco de queda da tubagem para fora do contentor de resíduos.

Coloque a tubagem de escoamento e excedentes de forma a que as saídas fiquem por baixo da bancada na qual a unidade Amersham WB analyzer está colocada. Corte a tubagem em comprimentos adequados e aperte-a para evitar o risco de queda da tubagem para fora do contentor de resíduos.

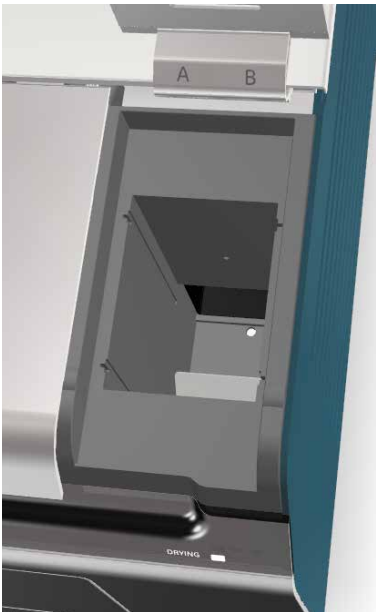


Instale os guias de secagem da membrana no compartimento de secagem

Passo	Acção
1	Abra o saco de plástico com os dois guias de secagem da membrana.

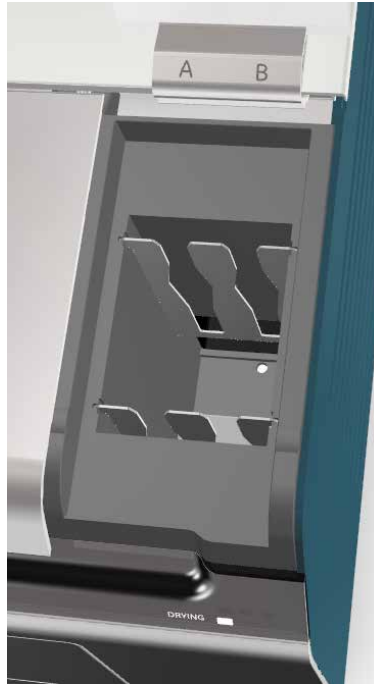


2	Abra a tampa do compartimento de secagem.
---	---

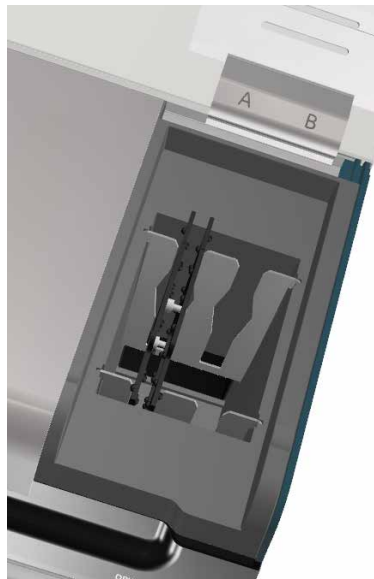


Passo	Ação
-------	------

- | | |
|---|--|
| 3 | Coloque os guias de secagem da membrana nos dois encaixes. |
|---|--|



- | | |
|---|--|
| 4 | Guarde os suportes de secagem no compartimento de secagem. |
|---|--|



Instale um leitor de etiquetas de matriz (opcional)

Passo	Acção
1	Ligue o cabo USB ao leitor de etiquetas de matriz.
2	Ligue o cabo USB ao computador.
3	Programe e verifique a função do leitor de etiquetas de matriz de acordo com as instruções na documentação do utilizador do leitor de etiquetas de matriz.

4.3 Instalação do software

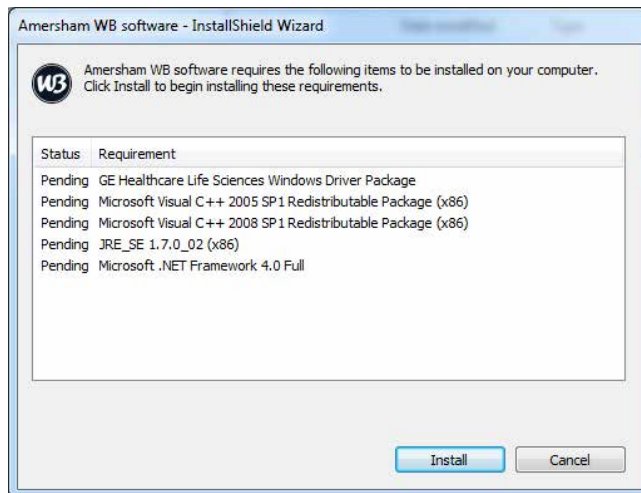
Instalar o Amersham WB software

Para instalar o software num computador com Windows 7 Professional:

Nota: É recomendado instalar quaisquer atualizações pendentes do Windows antes de instalar o software e seguir as instruções nas mensagens.
É recomendado concluir todo o processo de instalação (sem interrupções) após clicar em **Install**.

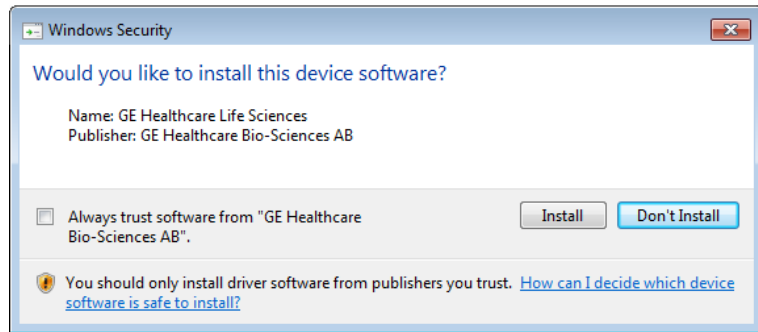
Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|---|
| 1 | Insira o DVD do software no computador.
Quando a primeira caixa de diálogo do assistente aparecer, clique em Install para instalar os requisitos do software. |
|---|---|

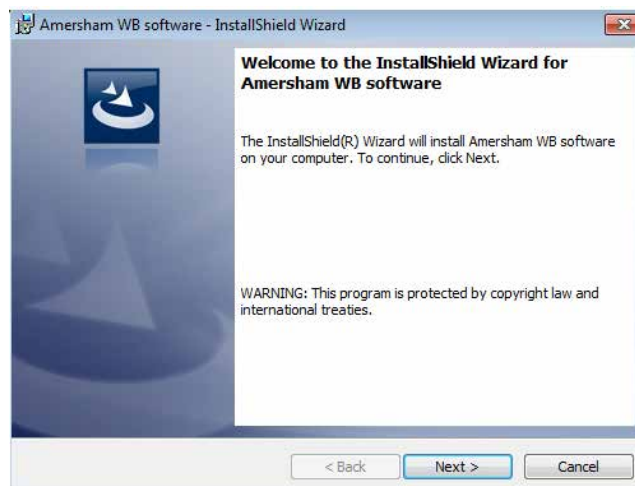


Passo	Ação
-------	------

- | | |
|---|---|
| 2 | Quando a Windows Security caixa de diálogo for apresentada, clique no botão Install . |
|---|---|

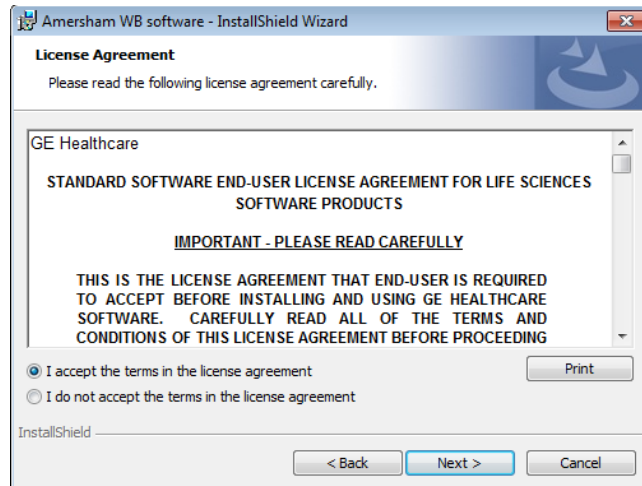


- | | |
|---|---|
| 3 | Quando todos os requisitos tiverem sido instalados com sucesso, inicie a instalação do software, clicando Next na caixa de diálogo Welcome to the InstallShield Wizard for Amersham WB software . |
|---|---|

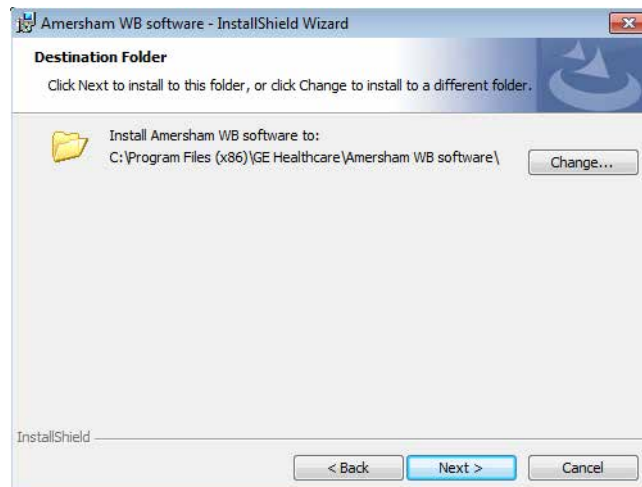


Passo **Ação**

- 4 Leia o acordo de licença do Software. Depois de ler e aceitar o acordo de licença, selecione **I accept....** a opção e clique em **Next**.

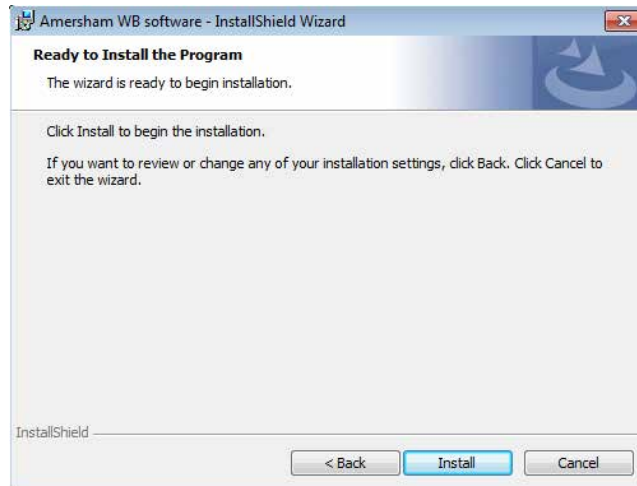


- 5
 - Para alterar o diretório pré-definido (não recomendado), clique em **Change** e procure o diretório pretendido.
 - Clique em **Next**

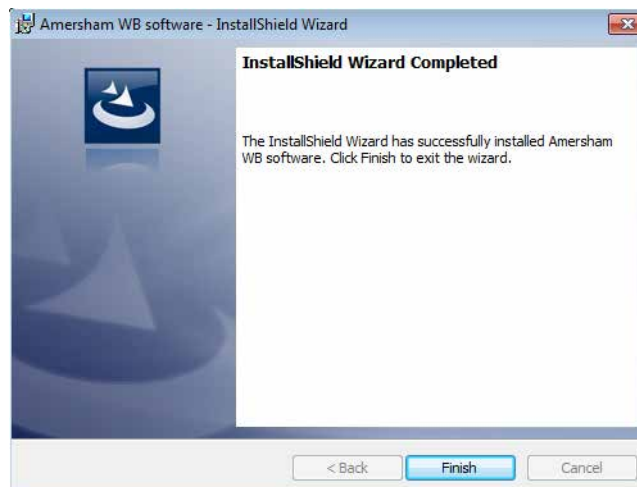


Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|---|
| 6 | <ul style="list-style-type: none">• Para rever ou alterar as configurações de instalação, clique em Back.• Para iniciar a instalação, clique em Install. |
|---|---|



- | | |
|---|--|
| 7 | Clique em Finish para sair do assistente de instalação. |
|---|--|



Verificar a comunicação do instrumento

Passo	Acção
1	Ligue o computador, a unidade do Elpho & scan e a unidade do Western.
2	Inicie o Amersham WB software. <i>Resultado:</i> O software apresentará a comunicação estabelecida com as unidades do instrumento. Se a comunicação não estiver estabelecida: • As ligações do cabo de alimentação ou de outros cabos podem não estar corretas: Verifique todas as instalações do hardware. • A rotina do driver USB pode não estar correta: Mude a porta USB do computador.

5 Realizar uma experiência

Sobre este capítulo

Esta secção fornece uma descrição geral dos dois tipos principais de experiências que podem ser efetuadas utilizando o Amersham WB system. Também descreve o workflow do tipo de experiência **Western with total protein normalization**.

Precauções



ATENÇÃO

Use sempre luvas, vestuário e óculos de proteção durante a operação e manutenção do Amersham WB analyzer.

Neste capítulo

Este capítulo contém as seguintes secções:

Secção	Consulte página
5.1 Descrição geral	115
5.2 Inicie o Amersham WB analyzer	119
5.3 Configurar uma experiência no software	121
5.4 Efetuar a pré-etiquetagem de amostras	125
5.5 Preparar os Amersham WB molecular weight markers	129
5.6 Efetuar a electroforese de proteínas	130
5.7 Efetuar transferência	142
5.8 Efetuar testes com sonda e secagem	167
5.9 Examinar membrana(s) e ver resultados	183

5.1 Descrição geral

Introdução

Esta secção fornece uma descrição geral dos dois tipos principais de experiências que podem ser efetuadas.

- experiências de electroforese
- Western experiências (inclui electroforese de proteínas)

Esta secção também descreve o workflow de uma experiência típica (descrito nas secções seguintes), ilustrado com o tipo de experiência **Western with total protein normalization**.

Experiências de electroforese

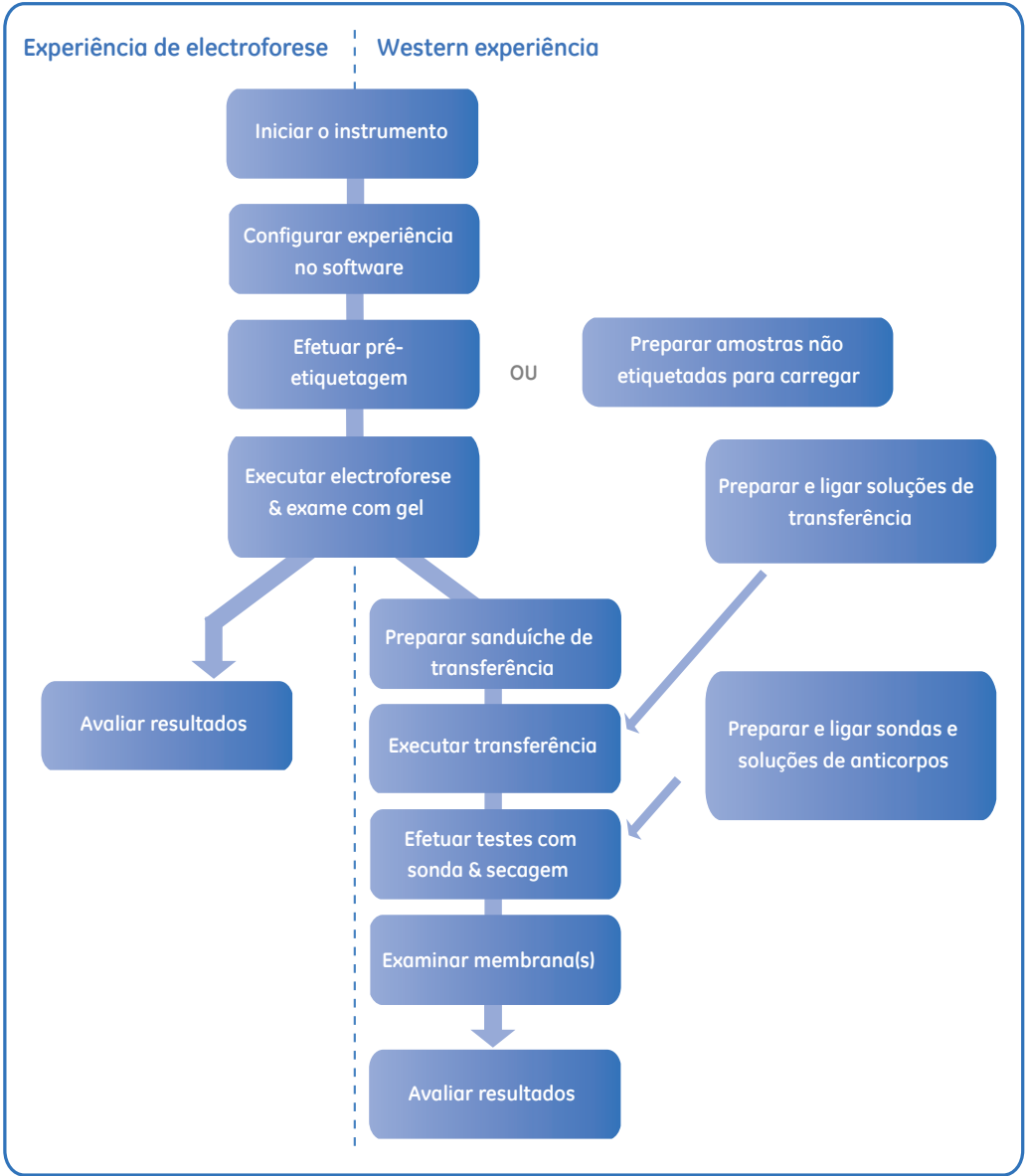
Em experiências de electroforese, as amostras são pré-etiquetadas utilizando reagente corante Cy5 antes da electroforese. Isto permite uma deteção direta das proteínas pré-etiquetadas na amostra, eliminando a necessidade de manchar posteriormente o gel. Na etapa da Avaliação, após o exame do gel, é realizada a análise automática das bandas de proteínas e os resultados são apresentados no software.

experiências Western

Experiência Em experiências Western, as proteínas não-etiquetadas ou pré-etiquetadas Cy5 são separadas no gel durante a electroforese e, de seguida, transferidas do gel para uma membrana. A membrana é sondada com anticorpos primários e secundários conjugados com tinta Cy3 ou Cy5 para a deteção de proteínas alvo. Para a deteção de proteína total, a amostra é pré-etiquetada com Cy5. Após o processo de teste com sonda, a membrana é seca e, de seguida, examinada. Na etapa de Avaliação é realizada a análise automática das bandas de proteínas e os resultados são apresentados no software.

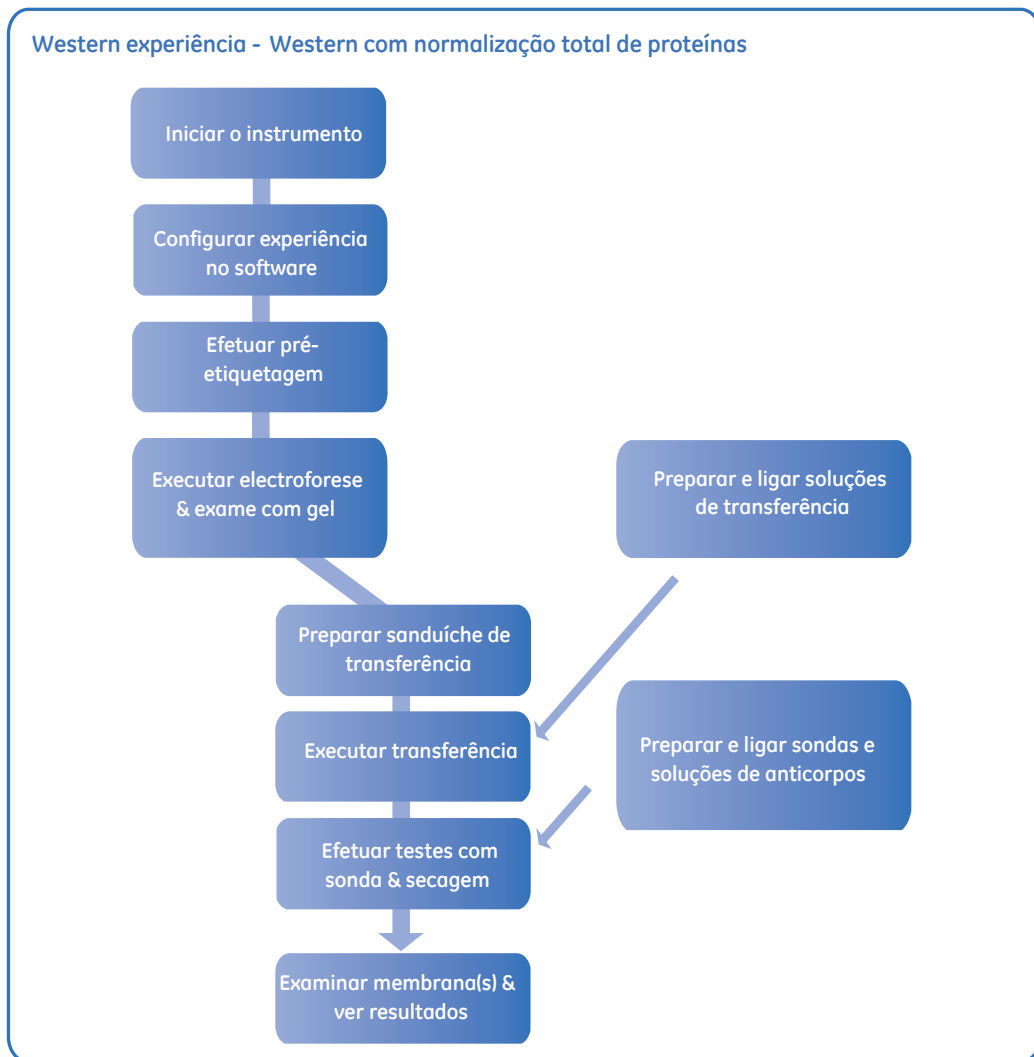
Descrição geral do workflow

A imagem abaixo mostra as etapas principais em Electroforese e experiências Western.



Workflow – Western experiência com normalização de proteína total

A imagem abaixo apresenta as etapas principais do tipo de experiência **Western with total protein normalization**. Este workflow é usado para exemplificar como efetuar uma experiência típica e é descrito mais à frente nas secções seguintes. Para outros tipos de experiência, consulte Amersham WB system User Manual.



5 Realizar uma experiência

5.1 Descrição geral

A tabela abaixo lista as secções nas quais as etapas são descritas.

Passo	Consulte...
Iniciar o instrumento	<i>Secção 5.2 Inicie o Amersham WB analyzer, na página 119</i>
Configurar uma experiência no software	<i>Secção 5.3 Configurar uma experiência no software, na página 121</i>
Efetuar pré-etiquetagem	<i>Secção 5.4 Efetuar a pré-etiquetagem de amostras, na página 125</i>
Executar electroforese e exame	<i>Secção 5.6 Efetuar a electroforese de proteínas, na página 130</i>
Preparar e ligar soluções de transferência	<i>Secção 5.7.1 Preparar e ligar soluções de transferência, na página 143</i>
• Preparar sanduíche de transferência • Executar transferência	<i>Secção 5.7 Efetuar transferência, na página 142</i>
Preparar e ligar sondas e soluções de anticorpos	<i>Secção 5.8.1 Preparar e ligar sondas e soluções de anticorpos, na página 168</i>
Efetuar testes com sonda e secagem	<i>Secção 5.8 Efetuar testes com sonda e secagem, na página 167</i>
Examinar membrana(s) e ver resultados	<i>Secção 5.9 Examinar membrana(s) e ver resultados, na página 183</i>

Encontrar mais informação

Para informações básicas e detalhadas sobre como planejar experiências, consulte o Manual do Amersham WB system *User Manual*. Este pode ser acedido através do software selecionando **Help:View user manual** na barra de menu.

Para mais detalhes sobre o software, consulte a *Amersham WB software help* incluída no software (disponível no painel direito do software).

5.2 Inicie o Amersham WB analyzer

Introdução

Esta secção descreve o modo de iniciar as unidades do Amersham WB analyzer. É possível configurar uma experiência com antecedência num computador de escritório sem ligação ao instrumento.

Nota: Ambas as unidades de instrumentos devem estar ligadas durante uma execução.

Inicie a unidade do Amersham WB elpho & scan

Passo	Acção
1	No painel posterior da unidade do Elpho & scan, prima o interruptor de alimentação eléctrica para I (ON).



Resultado: A unidade do Elpho & scan é iniciada.

2	Durante o arranque, o painel indicador apresenta o seguinte:
---	--

ELPHO & SCAN

Quando o instrumento estiver pronto a ser utilizado, é apresentado um quadrado branco.

ELPHO & SCAN

Inicie a unidade do Amersham WB western

Passo	Acção
1	No painel posterior da unidade do Western, prima o interruptor de alimentação elétrica para I (ON). Nota: <i>A unidade do Elpho & scan deve estar ligada para ser possível executar a unidade do Western.</i>  <i>Resultado:</i> A unidade do Western é iniciada.
2	Durante o arranque, o painel indicador apresenta o seguinte:  Quando os compartimentos da unidade do Western estiverem prontos a serem utilizados, é apresentado um quadrado branco para cada um dos três compartimentos (transferência, sondas e secagem). 

5.3 Configurar uma experiência no software

Introdução

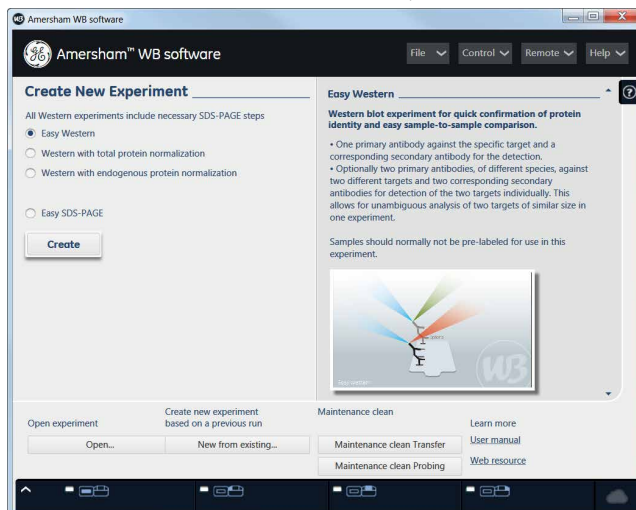
Esta secção descreve brevemente como iniciar o Amersham WB software e configurar uma experiência Amersham WB no software. Para informações detalhadas, consulte Amersham WB software Help no painel direito do software.

Iniciar o software

- | Passo | Acção |
|-------|--|
| 1 | Ligue o computador e inicie sessão no Microsoft Windows. |
| 2 | Faça duplo clique no ícone Amersham WB software no ambiente de trabalho. |



Resultado: O ecrã inicial do software é apresentado.



Sugestão: Para mostrar o painel de ajuda com instruções para o ecrã ativo, clique no botão do painel de ajuda  ou prima **F1**.
Para abrir o manual do utilizador, seleccione **Help:View user manual** ou prima **Ctrl + F1**.

Criar e configurar uma experiência

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
1	Create New Experiment All Western experiments include necessary SDS-PAGE steps ☐ Easy Western ☒ Western with total protein normalization ☐ Western with endogenous protein normalization ☐ Easy SDS-PAGE Create	Selecione o tipo de experiência e clique em Create. Neste exemplo, Western with total protein normalization. <i>Resultado:</i> O ecrã principal do software abre apresentando a EXPERIMENT & SAMPLES etapa do workflow. Para informações gerais sobre o ecrã principal, consulte <i>Secção 3.9 Descrição geral do software</i>, na página 88.
2	EXPERIMENT & SAMPLES Number of gel cards ☐ A ☒ A ☐ B Gel card Select gel card Gel card 14, 13.5% Gel card 14, 8-18%	- Selecione o número de cartões em gel para a experiência. - Selecione o tipo de cartão em gel. Consulte <i>Resolução de separação de proteínas</i>, na página 70 para informações sobre os intervalos de separação de proteínas. <i>Resultado:</i> A Gel card A tabela e as opções na Antibodies for Membrane A área estão ativadas.

Passo

Ilustração da etapa

3

Gel card A

Gel card B

Type	Sample ID	Amount	Comments
1 Blank			
2 Amersham™ WB MW Markers			
3 Sample			
4 Sample			
5 Sample			
6 Sample			
7 Sample			
8 Sample			
9 Sample			
10 Sample			
11 Sample			
12 Sample			
13 Sample			
14 Sample			
15 Amersham™ WB MW Markers			
16 Blank			

Acções do operador

Insira a informação da amostra e os comentários na **Gel card A** tabela (opcional).

Consulte Secção 3.6.1 *Amersham WB molecular weight markers*, na página 68 para informações sobre os marcadores MW e o cálculo automático da curva de calibração do peso molecular.

Sugestão:
A tabela das amostras não está bloqueada durante a electroforese. Por essa razão, é possível preencher a tabela durante a etapa da electroforese, após a execução ter iniciado, se for necessário iniciar uma execução rapidamente.

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
4	Antibodies for Membrane A Primary ab (against target) Enter description Labeled secondary ab Select Labeled secondary ab Goat anti-mouse Cy™3 Goat anti-rabbit Cy™3	Insira o nome/descrição Primary ab (against target) (optional) e selecione o mais adequado Labeled secondary ab no separador Gel card A. Neste protocolo, foi usado Cy5 para a pré-etiquetagem. Selecione um anticorpo secundário conjugado com Cy3. Repita as etapas 3-4 para o cartão em gel B, se incluído na experiência. Sugestão: Pode imprimir o protocolo e utilizá-lo juntamente com a preparação de amostras e a pré-etiquetagem. Para imprimir o protocolo clique no ícone  do lado direito dos separadores do cartão em gel ou prima Ctrl + P.

5.4 Efetuar a pré-etiquetagem de amostras

Introdução

A pré-etiquetagem de amostras é necessária para a detecção durante a execução de experiências de electroforese. Também é necessária em experiências Western ao detetar a proteína total numa membrana.

Esta secção descreve:

- pré-requisitos para a pré-etiquetagem
- materiais necessários para a pré-etiquetagem
- preparativos antes de iniciar a pré-etiquetagem
- etiquetagem de amostras (protocolo de pré-etiquetagem)

Neste exemplo, é efetuada a pré-etiquetagem de amostras de lise de célula/tecido a utilizar numa experiência **Western with total protein normalization**. Para obter mais informações sobre a pré-etiquetagem, consulte o *Amersham WB system User Manual*.

Precauções



ADVERTÊNCIA

Ao trabalhar com pré-etiquetagem de amostras de proteínas:

- Use sempre vestuário de proteção, luvas e óculos.
- Leia a Ficha de Dados de Segurança (SDS/MSDS) antes de efetuar a pré-etiquetagem de amostras.



ATENÇÃO

Após a pré-etiquetagem de proteínas nas amostras, pode surgir um forte odor a partir de vestígios de sulfureto de dimetilo (DMS) e sulfóxido de dimetilo (DMSO). Pode ser necessária a ventilação por exaustão local. Siga os regulamentos locais e as instruções para um funcionamento seguro.

Nota:

Para obter eficiências de etiquetagem comparáveis, parâmetros importantes como: pH, volume de reação, temperatura e sais de tampão devem ser invariantes.

A etiquetagem de eficiências também varia de proteína para proteína.

Pré-requisitos para a pré-etiquetagem de amostras utilizando o protocolo de pré-etiquetagem Western

Tampões de lise compatíveis

Tampões de lise comuns baseados em Tris com pH de 7 a 9 e com vários detergentes e sais são compatíveis com a pré-etiquetagem de amostras de célula/tecido, por exemplo:

- Tampão de extração de proteína de mamíferos GE
- Tampão RIPA

pH da amostra

O pH da amostra deve ser entre 7 e 9.

O pH ideal não é crítico para lisados celulares e extratos de tecido, pois a alta sensibilidade para o sinal de proteína total não é necessária. O sinal de proteína total numa experiência Western com normalização de proteína total deve ser proporcional à quantidade de proteína (não dependente da alta sensibilidade).

Soluções e materiais necessários

As seguintes soluções e materiais são necessários para a pré-etiquetagem de proteínas:

- Consumíveis de pré-etiquetagem: Reagente corante Cy5, Tampão de etiquetagem, Tampão de carregamento
 - 1 M DTT (ditiotreitól) de solução de reserva (DTT e água ultrapura) se for efetuada a redução de SDS-PAGE
 - Água ultrapura para diluir o reagente corante Cy5
 - Tampão de lise original para ajustar o volume de reação (apenas experiências "Western")
 - 0,5 ml de tubos de microcentrifugação
 - Bloco de aquecimento
 - Vórtice
 - Centrifugadora
-

Preparativos antes de iniciar a pré-etiquetagem

Passo	Ação
1	• Retire um de cada dos seguintes recipientes (suficiente para executar dois cartões em gel) do congelador: - 1 recipiente Amersham WB Cy5 - 1 recipiente Amersham WB loading buffer • Descongele completamente os componentes de pré-etiquetagem. • Estabilize o recipiente Cy5 à temperatura ambiente antes de o abrir para evitar a condensação de humidade.
2	Centrifugue brevemente o líquido de reagente corante Cy5 utilizando uma centrífugadora.
3	Defina a temperatura do bloco de aquecimento para 95°C.
4	Para reduzir SDS-PAGE, adicione agente redutor ao tampão de carregamento: • Adicione 29 µl de 1 M DTT de solução de reserva a 0,7 ml (um recipiente) de tampão de carregamento e agite o vórtice para misturar.

Efetuar pré-etiquetagem de amostras (Western protocolo de pré-etiquetagem)

Sugestão: O protocolo abaixo pode ser aumentado.

Passo	Acção
1	Efetuar a reacção de etiquetagem num tubo de microcentrifugação de 0,5 ml: • Adicione 2-19 µl amostra de lisado celular ou extrato de tecido (máximo de 40 µg proteína total), e encha até um volume de 19 µl utilizando o tampão de lise da amostra original. • Adicione 1 µl de reagente corante Cy5 diluído 1:10 em água ultrapura. Nota: <i>A tinta diluída deve ser preparada na altura e usada dentro de 30 minutos. Não pode ser congelada ou reutilizada.</i> • Agite brevemente o vórtice para misturar completamente.
2	Incubar à temperatura ambiente durante 30 minutos. Nota: <i>Certifique-se de que o tempo de etiquetagem e o volume é igual para todas as amostras.</i> <i>Para amostras sensíveis à temperatura, incubar em gelo durante 30 minutos.</i>
3	Adicione 20 µl de tampão de carregamento.
4	Aqueça as amostras a 95°C durante 3 minutos.
5	Centrifugue as amostras. O volume total de amostra é de 40 µl por reacção (o volume de carregamento recomendado é de 20 µl). Continue a carregar as amostras, como descrito em <i>Preparativos antes de iniciar a electroforese, na página 131</i>. Se a análise electroforese for efetuada mais tarde, armazene as amostras pré-etiquetadas a -20°C.

5.5 Preparar os Amersham WB molecular weight markers

Introdução

Retire um recipiente dos Amersham WB molecular weight markers (marcadores de peso molecular) (suficiente para executar dois cartões em gel) do congelador e descongele-o completamente.

experiências Western

Nas experiências Western, os Amersham WB molecular weight markers devem ser diluídos na proporção 1:20 no tampão de carregamento, antes do carregamento no cartão em gel. Antes de ser utilizado, o tampão de carregamento fornecido deve ser diluído em água ultrapura e conter DTT adicionado.

Passo	Acção
1	Adicione 29 µl de 1 M DTT de solução de reserva a 0,7 ml (um recipiente) de tampão de carregamento. Agite o vórtice para misturar.
2	Dilua o tampão de carregamento com DTT num volume igual de água ultrapura. Agite o vórtice para misturar.
3	Dilua os marcadores de peso molecular em 1:20 com o tampão de carregamento preparado.

Nota: Os marcadores de peso molecular podem ser diluídos mais tarde no tampão de carregamento, para as amostras com sinais fracos. No entanto, é necessário seleccionar a opção **Stop electrophoresis on time**.

Experiências de electroforese

Em experiências de Electroforese, geralmente não há necessidade de diluir os Amersham WB molecular weight markers. Se necessário, dilua os marcadores de peso molecular no tampão de carregamento com DTT (diluído com igual volume de água ultrapura).

Repetições

É recomendado incluir dois marcadores na execução para obter os melhores resultados possíveis na calibração automática do peso molecular das proteínas de amostra na etapa de avaliação.

5.6 Efetuar a electroforese de proteínas

Introdução

Esta secção descreve como efetuar a electroforese de proteínas, incluindo:

- preparativos antes de iniciar a electroforese
- efetuar a limpeza do poço das amostras
- iniciar e supervisionar a electroforese e o exame de cartões em gel
- procedimentos após a electroforese e o exame de cartões em gel

Nesta secção

Esta secção contém as seguintes subsecções:

Secção	Consulte página
5.6.1 Antes da electroforese	131
5.6.2 Executar a electroforese	138
5.6.3 Procedimentos após a electroforese e o exame de cartões em gel	140

5.6.1 Antes da electroforese

Introdução

Esta secção descreve como carregar tiras de tampão, cartões em gel, Amersham WB molecular weight markers preparados e amostras para a execução da electroforese.

Preparativos antes de iniciar a electroforese



ADVERTÊNCIA

Explosão de vidro. Não execute o sistema se o vidro na tampa de vedação na unidade do Elpho & scan estiver arranhado ou partido. Desligue o instrumento, desconecte o cabo de alimentação e contacte um engenheiro de assistência autorizado.



ATENÇÃO

Peças móveis. Tenha cuidado ao abrir/fechar o carregador para evitar que os dedos ou vestuário fiquem presos quando o carregador se movimenta.

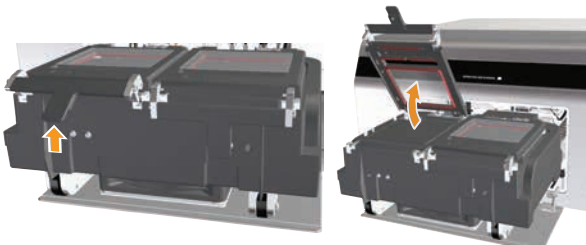
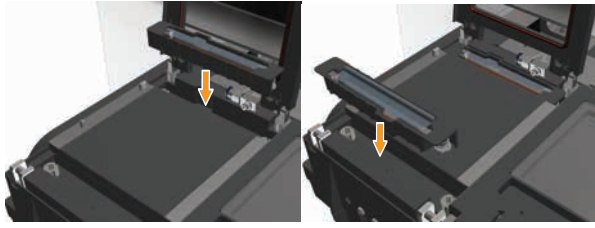
Nunca coloque frascos ou recipientes à frente da unidade do Elpho & scan. Os mesmos podem cair quando o carregador é aberto.

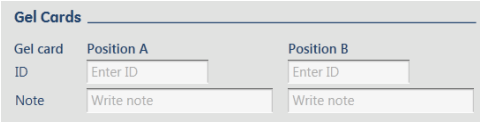
Passo	Ilustração da etapa	Ações do operador
1		Coloque as tiras de tampão nos seus suportes retirando duas tiras de tampão da embalagem e colocando-as directamente nos suportes. Nota: <i>Para evitar a contaminação das tiras de tampão, não toque nas tiras de tampão, ou utilize sempre luvas limpas.</i>

5 Realizar uma experiência

5.6 Efetuar a electroforese de proteínas

5.6.1 Antes da electroforese

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
2		Prima o botão de ejetar na unidade do Elpho & scan. <i>Resultado:</i> O carregador é ejetado.
3		Abra a tampa de vedação utilizando o trinco.
4		Coloque os suportes das tiras de tampão nas cavidades da placa do cartão no carregador.

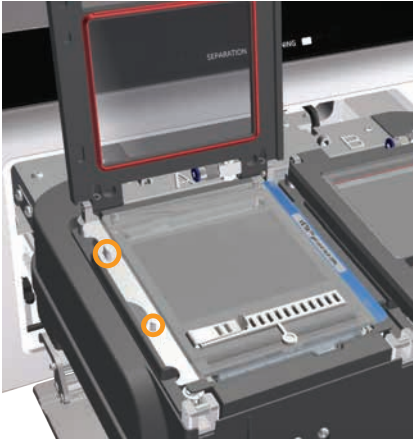
Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
5	 	- Retire um cartão em gel da embalagem (com a parte da frente para cima). <i>Opcional:</i> Coloque o cursor no ID campo no software, na ELECTROPHORESIS & GEL SCANNING etapa do workflow e examine a etiqueta de matriz do cartão em gel (indicada com um círculo cor de laranja) utilizando o leitor de etiquetas de matriz. Em alternativa, introduza uma ID de cinco dígitos (ex. 00123).

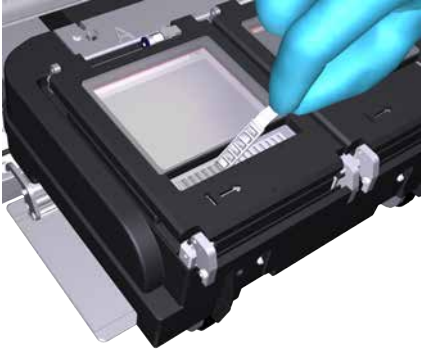
5 Realizar uma experiência

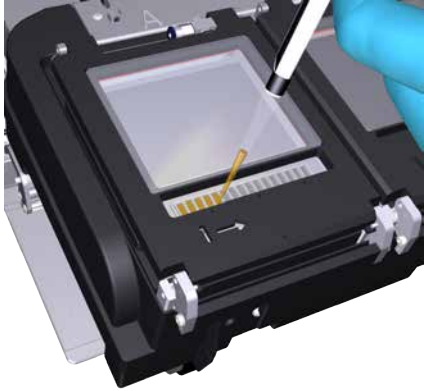
5.6 Efetuar a electroforese de proteínas

5.6.1 Antes da electroforese

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
6		• Vire o cartão em gel de forma a que o verso fique virado para cima (as pegas azuis do gel sem etiquetas estão viradas para cima). • Pegue na extremidade da película protetora na parte inferior do cartão em gel e remova-a com cuidado. • Pegue na extremidade da película protetora na parte superior do cartão em gel e remova-a com cuidado. Ao remover as películas protetoras, o contacto entre o gel e o tampão é estabelecido quando se coloca o cartão em gel na placa do cartão. Tenha cuidado para não tocar nas superfícies de gel expostas.

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
7		• Vire o cartão em gel de forma a que a frente fique virada para cima (isto é, a tampa do poço de amostras virada para cima). Nota: <i>Certifique-se de que a placa do cartão está completamente seca.</i> • Coloque o cartão em gel na placa do cartão alinhando os orifícios na estrutura do cartão em gel com os pinos guia indicados por círculos cor de laranja. Nota: <i>Tenha cuidado para não arrancar a placa do cartão com objetos afiados.</i>

Passo	Ilustração da etapa	Ações do operador
8		• Feche a tampa de vedação. • Pegue na extremidade da tampa do poço de amostras e remova-a com cuidado. Sugestão: <i>Ao remover a tampa do poço de amostras pegue de forma a segurar o mais próximo possível dos poços.</i> Nota: <i>Se a tampa do poço de amostras se partir: Deixe o cartão em gel ficar no carregador com a tampa de vedação fechada. Utilize, por exemplo, pinças para remover o resto da tampa do poço.</i>

Passo	Ilustração da etapa	Ações do operador
9		Carregue as amostras, o tampão de carregamento, e/ou os marcadores de peso molecular nos poços (normalmente 20 µl/poço como definido no EXPERIMENT & SAMPLES ecrã no software. Nota: <i>Nunca abra a tampa depois das amostras terem sido carregadas.</i> Nota: <i>Todos os poços devem ser carregados juntamente com uma amostra, tampão de carregamento (diluído com um volume igual de água ultrapura) ou marcadores de peso molecular. É recomendado ter o tampão de carregamento nos poços 1 e 16, e marcadores de peso molecular nos poços 2 e 15.</i>
10		Quando todas as amostras tiverem sido carregadas, prima o botão ejetar. Resultado: O carregador é inserido na unidade do Elpho & scan.

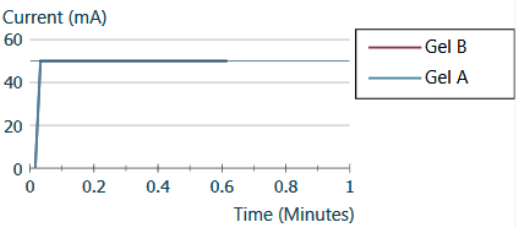
5.6.2 Executar a electroforese

Introdução

Esta secção descreve como iniciar e supervisionar a electroforese.

Iniciar e supervisionar a electroforese e o exame de cartões em gel

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
1	 Gel Cards Gel card Position A Position B ID Enter ID Enter ID Note Write note Write note Electrophoresis Protocol Voltage limit 600 250 - 600 V Current limit 50 20 - 50 mA ☐ Pause for sample well cleanup after 5 minutes ☒ Stop electrophoresis on front detection Estimated time: 42 minutes ☐ Stop electrophoresis on time Default Gel Scanning Protocol ☒ Scan gel automatically after electrophoresis Scanning sensitivity ☒ Automatic sensitivity ☐ Manual sensitivity Default	- No passo ELECTROPHORESIS & GEL SCANNING do workflow, utilize as configurações pré-definidas para a electroforese e o exame de cartões em gel, tal como apresentado na imagem do ecrã. <i>Opcional:</i> Selecione Pause for sample well cleanup after 5 minutes, se for utilizado o pente para papel. Consulte o <i>Secção 3.6 Acessórios e consumíveis para a electroforese, na página 67</i>, para mais informações. O tempo de pausa é calculado através das configurações da tensão e da corrente. A pré-definição é de 5 minutos. <i>Opcional:</i> Insira uma nota sobre os cartões em gel nos Note campos.

Passo	Ilustração da etapa	Ações do operador
2	Electrophoresis Start Ready for Electrophoresis Electrophoresis Start Electrophoresis in progress Elapsed time 37 s Voltage Current Power Temp Gel A 50 mA Gel B 50 mA 	Clique em Start na área Electrophoresis. Resultado: A execução da electroforese é iniciada. O progresso da execução é apresentado nas curvas mostrando a corrente, tensão, efeito ou temperatura. O tempo decorrido da execução também é apresentado. Sugestão: Durante a electroforese, há tempo para preparar tampões e soluções para as etapas Western. Consulte Secção 5.7.1 Preparar e ligar soluções de transferência, na página 143 e Secção 5.8.1 Preparar e ligar sondas e soluções de anticorpos, na página 168 para mais informações.
3	Electrophoresis Pause for sample well clean up. 1. Open the elpho & scan loader. 2. Apply the Paper comb in the sample wells for 5 seconds. 3. Close the elpho & scan loader. Press the button below to continue the electrophoresis run. Continue run 	Se Pause for sample well cleanup after 5 minutes tiver sido selecionado, siga as instruções abaixo. 1 Abra o carregador. 2 Coloque o pente nos poços de amostras e mantenha-o aí durante cerca de 5 segundos. 3 Feche o carregador e continue a execução.

5.6.3 Procedimentos após a electroforese e o exame de cartões em gel

Introdução

Esta secção descreve como retirar o cartão em gel e como limpar a unidade do Elpho & scan após a electroforese.

Remover cartões em gel



ADVERTÊNCIA

Após a electroforese ou após a transferência (quando a sanduíche de transferência tiver sido aberta e o cartão PVDF tiver sido colocado no compartimento das sondas), elimine o gel de forma segura. Leia a Ficha de Dados de Segurança (SDS/MSDS) de cartões em gel para instruções de segurança relativas ao gel e à eliminação do gel.

Nota: A execução da transferência deve iniciar dentro de uma hora após a conclusão da electroforese.

Passo	Acção
1	Quando a electroforese estiver preparada e o indicador luminoso branco estiver aceso no painel de instrumentos, prima o botão ejetar na unidade do Elpho & scan. <i>Resultado:</i> O carregador é ejetado.
2	Abra a tampa de vedação utilizando o trinco.
3	Remova o cartão em gel e coloque-o ao contrário em cima da bancada.
4	Siga para <i>Limpar a unidade do Elpho & scan</i> , na página 141. Nota: <i>É recomendado limpar a unidade do Elpho & scan após cada execução. Se o tempo não o permitir, siga para a transferência e limpe a unidade mais tarde durante a experiência.</i>

Limpar a unidade do Elpho & scan

Passo	Acção
1	Remova os suportes das tiras de tampão do carregador e deite fora as tiras de tampão.
2	Limpe quaisquer líquidos da placa do cartão utilizando um pano sem pêlos, se necessário, molhado com 50% de etanol.
3	Limpe quaisquer líquidos e sujidade do vidro protetor utilizando um pano sem pêlos, se necessário, molhado com 50% de etanol. Nota: <i>É importante manter o vidro protetor limpo de forma a obter um bom resultado ao examinar cartões em gel e PVDF cartões.</i>
4	Fechre a tampa de vedação e prima o botão de ejetar na unidade do Elpho & scan. <i>Resultado:</i> O carregador é inserido.
5	Limpe os suportes de tiras de tampão com água corrente para remover sais e o tampão. Deixe os suportes de tiras de tampão a secar virados ao contrário.

Continue para transferência

Efetue uma das seguintes ações:

- Se as soluções de transferência tiverem sido preparadas e ligadas à unidade do Western, siga as instruções em *Secção 5.7.2 Preparar sanduíche de transferência, na página 145.*
de outro modo
- Siga as instruções em *Secção 5.7.1 Preparar e ligar soluções de transferência, na página 143.*

5.7 Efetuar transferência

Introdução

Esta secção descreve como preparar a sanduíche de transferência, como iniciar e supervisionar a execução da transferência e os procedimentos a realizar após a execução da transferência.

Nesta secção

Esta secção contém as seguintes subsecções:

Secção	Consulte página
5.7.1 Preparar e ligar soluções de transferência	143
5.7.2 Preparar sanduíche de transferência	145
5.7.3 Executar transferência	160
5.7.4 Procedimentos após a transferência	164

5.7.1 Preparar e ligar soluções de transferência

Introdução

Esta secção descreve como preparar e ligar tampões e soluções para a transferência. As soluções de transferência podem ser preparadas durante a execução da electroforese e devem ser ligadas antes de iniciar a transferência.

Receitas de soluções de transferência



ADVERTÊNCIA

Coloque o Amersham WB analyzer numa sala com ventilação por exaustão caso seja usado metanol ou outros químicos que requeiram ventilação.



ATENÇÃO

Perigo de incêndio. Não utilize soluções tampão de transferência que consistam em mais de 40% de etanol ou 40% de metanol. É recomendada a utilização de apenas 20% de etanol em tampões de transferência.

Solução	Receita	Quantidade/execução
Tampão de transferência	25 mM Tris, 192 mM glicina, 20% etanol pH 8.3 É possível utilizar metanol em vez de etanol no tampão de transferência. Nota: <i>Alguns tipos de etanol têm propriedades auto fluorescentes que levarão a um contexto de membrana elevado. Certifique-se de que o etanol utilizado durante a transferência não é auto fluorescente.</i>	1.000 ml
Água ultrapura (usada para limpeza)	Água ultrapura	1.000 ml

Ligar a tubagem ao tampão de transferência e água ultrapura no suporte para frascos



ATENÇÃO

Para evitar salpicos de líquidos perigosos, use filtros de admissão resistentes ligados à tubagem nos frascos.

Consulte *Secção 3.8 Outros acessórios*, na página 86 para ver descrições dos filtros de admissão e suportes de tubagem. Consulte *Anexe os suportes da tubagem*, na página 104 sobre como anexar os acessórios.

Antes de iniciar a transferência, ligue a tubagem ao tampão de transferência e água ultrapura (usada para limpar o reservatório de transferência) como se segue:

Passo	Acção
1	A partir da torre de tubagem esquerda, coloque a tubagem marcada T Buffer num frasco de 1000 ml com tampão de transferência.
2	Coloque a tubagem marcada T Water num frasco de 1000 ml com água ultrapura.

5.7.2 Preparar sanduíche de transferência

Materiais necessários

Os seguintes consumíveis e acessórios são necessários para preparar uma sanduíche de transferência:

- 1 suporte de transferência
- 1 cartão em gel já executado
- 1 PVDF cartão
- 2 esponjas
- 2 papéis de transferência
- 1 recipiente com tampão de transferência para molhar os papéis de transferência
- 1 recipiente com pelo menos 96% de etanol para pré-humedecer o cartão PVDF
- 1 recipiente com tampão de transferência para a equilibração do cartão PVDF

Nota: *Alguns tipos de etanol têm propriedades auto fluorescentes que levarão a um contexto de membrana elevado. Certifique-se de que o etanol utilizado durante a transferência não é auto fluorescente.*

Precauções



ADVERTÊNCIA

Use sempre luvas, vestuário e óculos de proteção ao manusear cartões em gel, cartões PVDF e outros consumíveis fornecidos com o Amersham WB system.

Ilustração da descrição geral da montagem da sanduíche de transferência

A ilustração abaixo mostra uma descrição geral da montagem da sanduíche de transferência.



A tabela abaixo descreve brevemente o processo de preparação de uma sanduíche de transferência.

Fase	Descrição
1	O cartão PVDF é pré-humedecido em etanol e, de seguida, equilibrado no tampão de transferência
2	É colocada uma esponja na parte inferior do suporte de transferência (tampa preta).
3	É pré-humedecido um papel de transferência no tampão de transferência e, de seguida, colocado no suporte de transferência.
4	A estrutura do gel, incluindo o gel com as proteínas separadas, é removido do suporte da estrutura do gel e colocado no suporte de transferência.
5	O cartão PVDF é colocado no suporte de transferência.
6	É pré-humedecido o segundo papel de transferência no tampão de transferência e, de seguida, colocado no suporte de transferência.
7	As bolhas de ar devem ser removidas utilizando o rolo integrado no suporte de transferência.

Fase	Descrição
8	É colocada uma segunda esponja no papel de transferência.
9	O suporte de transferência é fechado.

Preparar o cartão PVDF

Cartão As instruções abaixo descrevem a preparação da montagem de uma sanduíche de transferência:

Passo	Acção
-------	-------

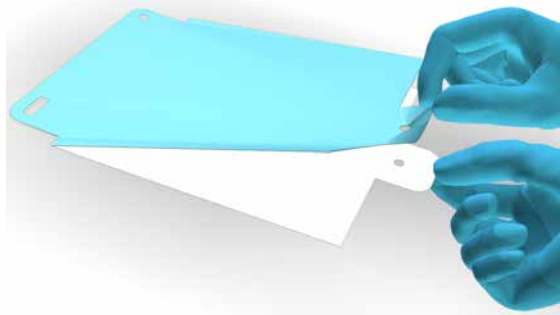
- | | |
|---|---|
| 1 | Retire uma embalagem individual de cartões PVDF da caixa de cartões PVDF. |
|---|---|



Nota:

Guarde a embalagem para a identificação do cartão PVDF individual e também para armazenar posteriormente.

- | | |
|---|--|
| 2 | Retire o cartão PVDF da embalagem e remova o primeiro papel azul protetor. |
|---|--|



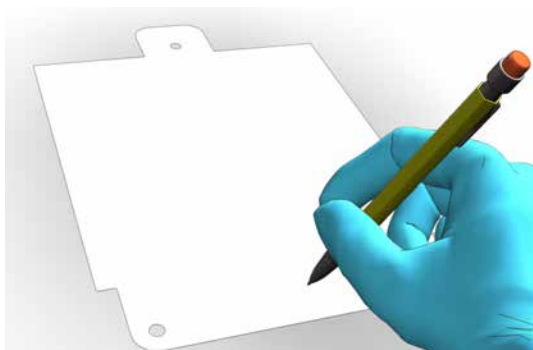
Passo	Acção
-------	-------

3	<i>Optional:</i>
---	-------------------------

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Antes de remover o segundo papel azul protetor, escreva uma anotação (utilizando um lápis) na superfície de escrita do cartão PVDF. |
|---|

Sugestão:

A superfície de escrita pode ser usada para inserir a posição (A ou B) em que o cartão PVDF é utilizado.



- Selecione a **TRANSFER** etapa do workflow no software. Coloque o cursor no **Note** campo adequado e introduza o texto.

Gel Cards & Membranes			
Membrane	☒ Position A	☒ Position B	
ID	Enter ID	Enter ID	
Note	Write note	Write note	

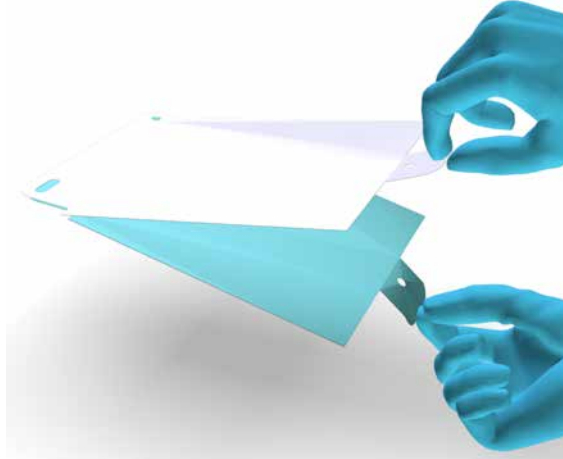
5 Realizar uma experiência

5.7 Efetuar transferência

5.7.2 Preparar sanduíche de transferência

Passo	Ação
-------	------

4	Remova o segundo papel azul protetor.
---	---------------------------------------



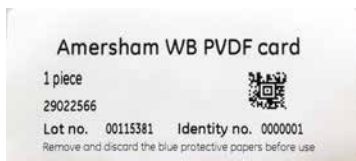
Nota:

Não toque na área de blotting (marcada com um quadrado vermelho na imagem) com os dedos. Segure no cartão PVDF usando as pegas.



Passo Ação

- 5 *Optional:* Insira a informação do cartão PVDF no software.
- Selecione a **TRANSFER** etapa do workflow no software.
 - Na área **Gel Cards & Membranes** coloque o cursor no **ID** campo adequado.
 - Introduza manualmente o número de identificação ou examine a etiqueta de matriz de dados na etiqueta da embalagem individual do cartão PVDF.



- Para inserir uma nota sobre a membrana, coloque o cursor no campo **Note** e introduza uma nota.

Sugestão:

Introduza o número de lote. Este não está incluído na matriz de dados mas está disponível na etiqueta na caixa de cartões PVDF.

Gel Cards & Membranes		
Membrane	☒ Position A	☒ Position B
ID	Enter ID	Enter ID
Note	Write note	Write note

- 6 Segure nas pegas do cartão PVDF e pré-humedeça o cartão em etanol deixando-o no tabuleiro com etanol durante aproximadamente 20 segundos.
- 7 Transfira o cartão PVDF para o recipiente do tampão de transferência do cartão PVDF e equilibre-o durante, pelo menos, 5 minutos.

Nota:

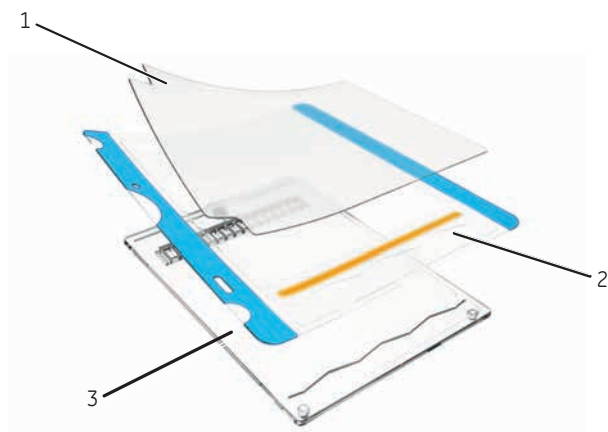
Certifique-se de que o cartão PVDF está coberto pelo tampão de transferência durante este tempo.

Inicie a montagem da sanduíche de transferência.

Passo	Ilustração da etapa	Ações do operador
1		• Coloque o suporte de transferência com o lado preto virado para baixo. • Abra o suporte de transferência premindo os trincos e levantando a tampa branca.
2		• Empurre a tampa até os pinos do rolo alcançarem as duas cavidades (marcadas com círculos cor de laranja na imagem). • Remova a tampa branca levantando-a através das duas cavidades.
3		Coloque a primeira esponja na tampa preta.
4		Pré-humedeça um papel de transferência no tampão de transferência e coloque-o na esponja na tampa preta (o suporte do papel de transferência deve ser colocado entre os pinos guia).

Ilustração da descrição geral da desmontagem do cartão em gel

A ilustração abaixo mostra uma vista explodida das partes do cartão em gel que devem ser desmontadas após a execução da electroforese.



A tabela abaixo descreve brevemente as partes do cartão em gel a desmontar.

Fase	Descrição
1	Película protetora. Esta película é removida em primeiro lugar.
2	Estrutura de gel As extremidades da estrutura de gel são desapertadas previamente do suporte da estrutura de gel (3 na ilustração) e, de seguida, removidas com cuidado.
3	O suporte da estrutura de gel permanece na bancada.

Solte a estrutura de gel do suporte da estrutura de gel e coloque-a no suporte de transferência.

Nota: Não toque na área do gel (marcada com uma cruz vermelha) ao soltar a estrutura de gel.

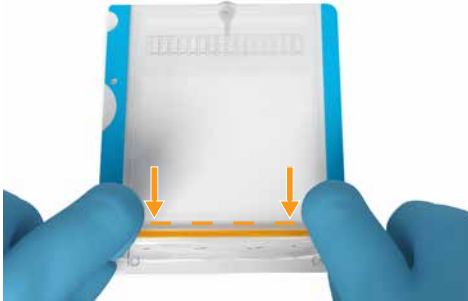


Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
1		Segure bem no cartão em gel. Remova a película protetora segurando na extremidade indicada por uma seta cor de laranja e puxando-a na diagonal na direção da seta.

5 Realizar uma experiência

5.7 Efetuar transferência

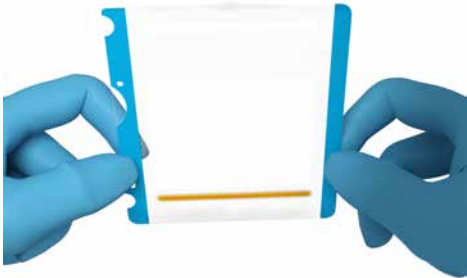
5.7.2 Preparar sanduíche de transferência

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
2		Coloque o cartão em gel na bancada (com o gel exposto virado para cima) como apresentado na imagem.
3		Segure nos cantos da parte inferior da estrutura de gel e solte a estrutura de gel entre os cantos inferiores como indicado pela linha tracejada e pelas setas. Nota: <i>Ao soltar o gel, continue a premir o cartão em gel contra a bancada com os seus dedos.</i>
4		Segure nos cantos da parte superior da estrutura de gel e solte a estrutura de gel como indicado pela linha tracejada. Certifique-se de que a estrutura de gel está completamente solta da tampa de borracha branca (indicado pela seta cor de laranja superior).

5 Realizar uma experiência

5.7 Efetuar transferência

5.7.2 Preparar sanduíche de transferência

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
5		Continue a soltar a estrutura de gel das extremidades do cartão em gel, com cuidado, na direção da extremidade inferior, até a estrutura estar completamente solta. Nota: <i>Ao soltar o gel, continue a premir o cartão em gel contra a bancada com os seus dedos.</i> Nota: <i>Tenha cuidado para não tocar no gel.</i>
6		Segure nas pegas da estrutura de gel e, cuidadosamente, levante o gel do suporte da estrutura.

5 Realizar uma experiência

5.7 Efetuar transferência

5.7.2 Preparar sanduíche de transferência

Passo	Ilustração da etapa	Ações do operador
7		Coloque a estrutura de gel no papel de transferência assentando os orifícios guia da estrutura nos pinos guia e fazendo o gel rolar no papel de transferência.

Coloque o cartão PVDF e termine a montagem da sanduíche de transferência

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
1		Segure em ambas as pegas do cartão PVDF com os dedos ou com a ajuda de pinças com ponta plana. Remova o cartão do tabuleiro do tampão de transferência. Nota: <i>Não toque na área blotting do cartão PVDF (indicada por um quadrado vermelho na imagem).</i>
2		Coloque o cartão PVDF no cartão em gel assentando os orifícios guia do cartão PVDF nos pinos guia e rolando o cartão PVDF no gel. Nota: <i>Não ajuste a posição do cartão PVDF depois de colocado no cartão em gel.</i>
3		Pré-humedeça um papel de transferência no tampão de transferência e coloque-o no cartão PVDF (o suporte do papel de transferência deve ser colocado entre os pinos guia).

5 Realizar uma experiência

5.7 Efetuar transferência

5.7.2 Preparar sanduíche de transferência

Passo	Ilustração da etapa	Ações do operador
4		Remova as bolhas de ar como indicado a seguir: • Retire a tampa branca e insira-a nas duas cavidades (imagem do lado esquerdo). • Segure nas pegas do papel de transferência com a mão esquerda e arraste o rolo nos rastros do suporte para o outro lado do suporte de transferência usando a mão direita.
5		Coloque a segunda esponja no papel de transferência.
6		Feche o suporte de transferência premindo a tampa até os trincos encaixarem.

5 Realizar uma experiência

5.7 Efetuar transferência

5.7.3 Executar transferência

5.7.3 Executar transferência

Introdução

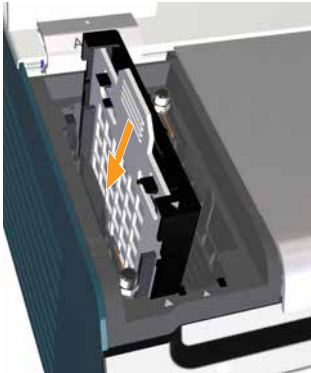
Esta secção descreve:

- Como carregar o suporte de transferência no reservatório de transferência
 - Como iniciar e supervisionar a transferência
 - os procedimentos a serem realizados após a transferência
-

Antes da transferência

Certifique-se de que há ligação entre o tampão de transferência e a água ultrapura para a execução da transferência. Consulte *Ligar a tubagem ao tampão de transferência e água ultrapura no suporte para frascos*, na página 144 para mais informações.

Carregar as sanduíches de transferência

Passo	Ilustração da etapa	Ações do operador
1		Abrir a tampa do reservatório de transferência.
2		Insira os suportes de transferência no reservatório. Certifique-se de que a seta branca aponta para a seta no instrumento (em direção a si).
3		Feche a tampa do reservatório de transferência.

5.7.3 Executar transferência



Perigo de choque eléctrico. Interrompa sempre uma transferência em curso antes de limpar líquido do instrumento ou da bancada.

5 Realizar uma experiência

5.7 Efetuar transferência

5.7.3 Executar transferência

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
3		Clique em Start na área Transfer . Nota: <i>Durante a execução da transferência, é recomendado preparar e ligar as soluções a serem utilizadas na etapa do teste com sondas.</i> <i>Consulte Secção 5.8.1 Preparar e ligar sondas e soluções de anticorpos, na página 168 para mais informações.</i>

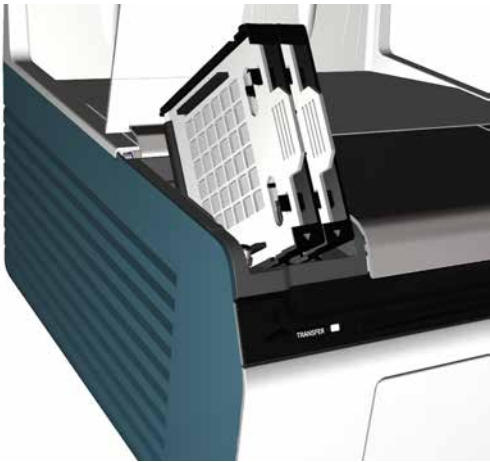
5.7.4 Procedimentos após a transferência

Introdução

Esta secção descreve os procedimentos de limpeza a realizar após a transferência

Remova o(s) suporte(s) de transferência.

Passo	Acção
1	Abra a tampa do reservatório de transferência.
2	Retire os suportes de transferência. Pendure-os na diagonal na parte dianteira interior do reservatório de transferência, acima do líquido.



Nota:
Para evitar a secagem das membranas, não abra os suportes de transferência nesta etapa.

Limpe o percurso do fluxo de transferência

Nota: Antes de proceder à limpeza, remova o suporte de transferência.

Passo	Ação
-------	------

- | | |
|---|---|
| 1 | Quando a transferência estiver concluída, a Transfer Completed – Clean Transfer Flow Path caixa de diálogo abre. |
|---|---|

Nota:

É recomendado limpar o percurso do fluxo de transferência após uma execução.

Se pretender saltar a fase de limpeza do percurso do fluxo de transferência, clique em **Cancel** e siga para Continue para testes com sondas, na página 166. No entanto, não se esqueça de limpar o percurso do fluxo de transferência, mais tarde, durante a experiência. A limpeza pode ser efetuada selecionando **Control:Clean Transfer flow path** na barra de menu.

Se saltou a fase de limpeza, o percurso do fluxo de transferência deve ser esvaziado manualmente, selecionando, **Empty Transfer tank** no menu **Control**.

- | | |
|---|--|
| 2 | Transfira a tubagem T Buffer para o frasco de água com 1000 ml de água ultrapura (juntamente com a T Water tubagem). |
|---|--|

- | | |
|---|---|
| 3 | Clique em Start clean na caixa de diálogo Transfer Completed – Clean Transfer Flow Path . |
|---|---|

A limpeza inicia e demora aproximadamente 9 minutos.

Nota:

O teste com sondas pode ser iniciado enquanto decorre a limpeza do percurso do fluxo de transferência, consulte Continue para testes com sondas, na página 166.

- | | |
|---|--|
| 4 | Elimine a solução do frasco de água e coloque a tubagem num frasco vazio. |
| 5 | Limpe a parte superior do interior do reservatório de transferência com um pano sem pêlos. |
| 6 | Remova quaisquer restos de partículas visíveis, fibras e peças de gel, utilizando pinças. |

Limpar o suporte de transferência



ADVERTÊNCIA

Após a electroforese ou após a transferência (quando a sanduíche de transferência tiver sido aberta e o cartão PVDF tiver sido colocado no compartimento das sondas), elimine o gel de forma segura. Leia a Ficha de Dados de Segurança (SDS/MSDS) de cartões em gel para instruções de segurança relativas ao gel e à eliminação do gel.

Nota: Efetue esta etapa quando a sanduíche de transferência tiver sido aberta e o cartão PVDF colocado na câmara de sondas.

Passo	Acção
1	Remova o gel da sanduíche de transferência. Elimine o gel de acordo com as instruções na SDS/MSDS e os procedimentos locais para o tratamento de resíduos.
2	Remova e elimine as esponjas e os papéis de transferência.
3	Limpe as diferentes partes do suporte de transferência utilizando água corrente.
4	Deixe o suporte de transferência a secar ao ar.

Continue para testes com sondas

Efetue uma das seguintes ações:

- Se os testes com sondas e as soluções de anticorpos tiverem sido preparados e ligados à unidade do Western, siga as instruções em Secção 5.8.2 *Teste com sondas*, na página 172
outro
- Siga as instruções em Secção 5.8.1 *Preparar e ligar sondas e soluções de anticorpos*, na página 168

5.8 Efetuar testes com sonda e secagem

Introdução

Esta secção descreve como efetuar o teste com sondas e a secagem.

Nesta secção

Esta secção contém as seguintes subsecções:

Secção	Consulte página
5.8.1 Preparar e ligar sondas e soluções de anticorpos	168
5.8.2 Teste com sondas	172
5.8.3 Procedimentos após o teste com sondas	177
5.8.4 Secagem	181

5.8.1 Preparar e ligar sondas e soluções de anticorpos

Introdução

Esta secção descreve como preparar e ligar tampões e soluções para os testes com sonda.

As soluções de anticorpos e testes com sonda podem ser preparados durante a execução da transferência e devem ser ligados antes da execução do teste com sondas.

Receitas para sondas e soluções de anticorpos

Solução	Receita	Quantida- de/execução
Solução de Bloqueio	O sistema é compatível com a maioria de soluções de bloqueio, por exemplo 2% agente ECL PRIME em PBS-T (0,1% Tween™-20 em 1×PBS), ou 5% Albumina de Soro Bovino em PBS. Utilizar soluções de bloqueio com baixa fluorescência automática, consulte o manual <i>Western Blotting – Principles and Methods</i> para recomendações.	70 ml
Tampão de lavagem	PBS-T (0,1% Tween-20 em 1×PBS)	560 ml
Tampão de lavagem final	PBS pH 7,4	290 ml
Solução de anticorpos	Anticorpos em PBS-T (0,1% Tween-20 em 1×PBS). Consulte Amersham WB system User Manual para saber como determinar as concentrações ideais de anticorpos.	de 5 a 12 ml
Água ultrapura (utilizada para a lavagem entre as etapas de testes com sondas e a limpeza do percurso do fluxo das sondas)	Água ultrapura	760 ml

Ligar a tubagem às soluções de testes com sondas no suporte para frascos



ATENÇÃO

Para evitar salpicos de líquidos perigosos, use filtros de admissão resistentes ligados à tubagem nos frascos.

Consulte *Secção 3.8 Outros acessórios*, na página 86 para ver descrições dos filtros de admissão e suportes de tubagem. Consulte *Anexe os suportes da tubagem*, na página 104 sobre como anexar os acessórios.

Antes de iniciar o teste com sondas, ligue a tubagem das torres central e da direita às soluções utilizadas na execução do teste com sondas, como se segue:

Passo	Acção
1	A partir da torre de tubagem central, coloque a tubagem marcada com: • P Water num frasco de 1000 ml com água ultrapura • P Block num frasco de 100 ml com solução de bloqueio
2	A partir da torre de tubagem direita, coloque a tubagem marcada com: • P Wash num frasco de 1000 ml com solução de lavagem (PBS-T) • P Final Wash num frasco de 500 ml com solução de lavagem final (PBS-T)
3	Antes de iniciar o teste com sondas, ligue os tubos de solução de anticorpos no compartimento de anticorpos (ver abaixo para mais informações).

Ligue os tubos de solução de anticorpos

Nota: As soluções de anticorpos devem ser preparadas e ligadas junto ao início do teste com sondas.

5 Realizar uma experiência

5.8 Efetuar testes com sonda e secagem

5.8.1 Preparar e ligar sondas e soluções de anticorpos

Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|---|
| 1 | Abra o compartimento de anticorpos na unidade do Western premindo o símbolo ejetor na tampa do compartimento de anticorpos. |
|---|---|



Passo Ação

- 2 Insira cada tubo de solução de anticorpos na posição correta, colocando a tubagem no tubo e encaixando o tubo.



A tabela abaixo descreve quais os anticorpos a colocar em cada posição do tubo de anticorpos no compartimento de anticorpos.

Posição	Descrição
A PRIMARY	Posição a ser utilizada para os anticorpos primários direcionada para a membrana na posição A na câmara de sondas.
A SECONDARY	Posição a ser utilizada para os anticorpos secundários direcionada para a membrana na posição A na câmara de sondas.
B PRIMARY	Posição a ser utilizada para os anticorpos primários direcionada para a membrana na posição B na câmara de sondas.
B SECONDARY	Posição a ser utilizada para os anticorpos secundários direcionada para a membrana na posição B na câmara de sondas.

- 3 Feche a tampa do compartimento de anticorpos.

Nota: *Para cada membrana existe um tubo de anticorpos para os anticorpos primários e outro para os secundários. Isto significa que, por exemplo, se dois anticorpos primários forem selecionados para a etiquetagem da membrana na **Position A**, eles são misturados no mesmo tubo de anticorpos e colocados na posição **A PRIMARY**.*

5.8.2 Teste com sondas

Introdução

Esta secção descreve como:

- Colocar os cartões PVDF nas câmaras de sondas
 - iniciar e supervisionar o teste com sondas
-

Precauções



ADVERTÊNCIA

Após a electroforese ou após a transferência (quando a sanduíche de transferência tiver sido aberta e o cartão PVDF tiver sido colocado no compartimento das sondas), elimine o gel de forma segura. Leia a Ficha de Dados de Segurança (SDS/MSDS) de cartões em gel para instruções de segurança relativas ao gel e à eliminação do gel.



ATENÇÃO

Perigo de entalamento. Não toque na câmara de sondas em movimento durante uma execução.

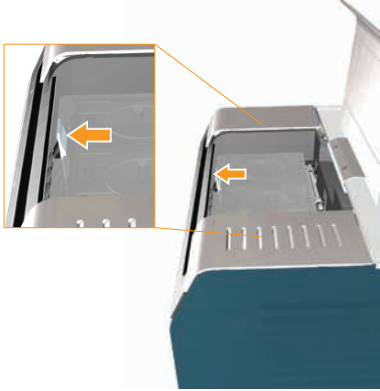
Antes do teste com sondas

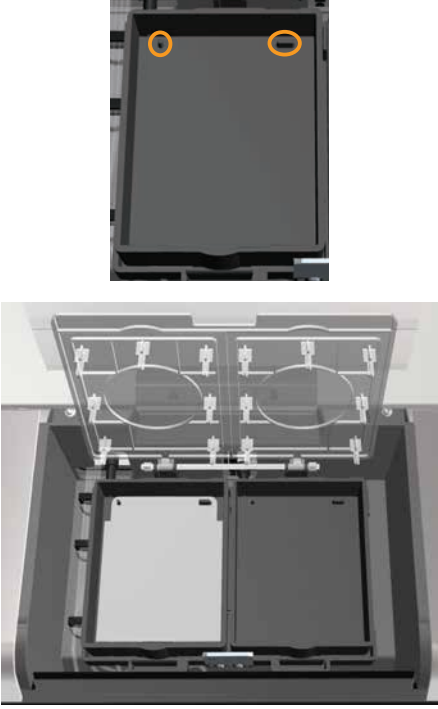
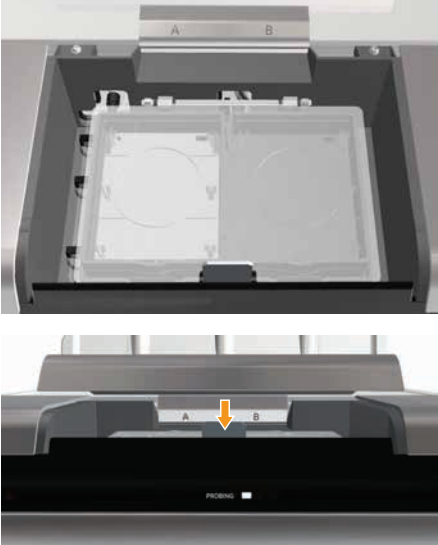
Certifique-se de que os tampões, a água ultrapura, os anticorpos e as soluções de lavagem e bloqueio estão ligadas antes de iniciar o teste com sondas.

Nota: *A água ultrapura deve estar sempre ligada porque é utilizada para a lavagem entre as etapas do teste com sondas. A solução de lavagem é utilizada para a lavagem entre os anticorpos primários na posição **A** e **B**.*

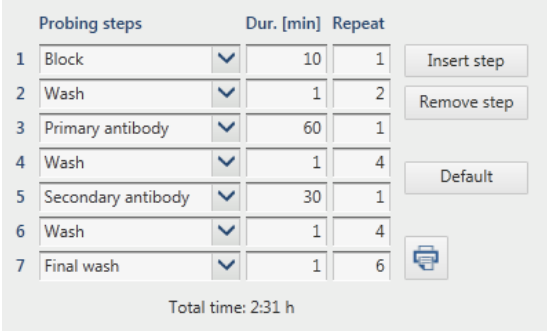
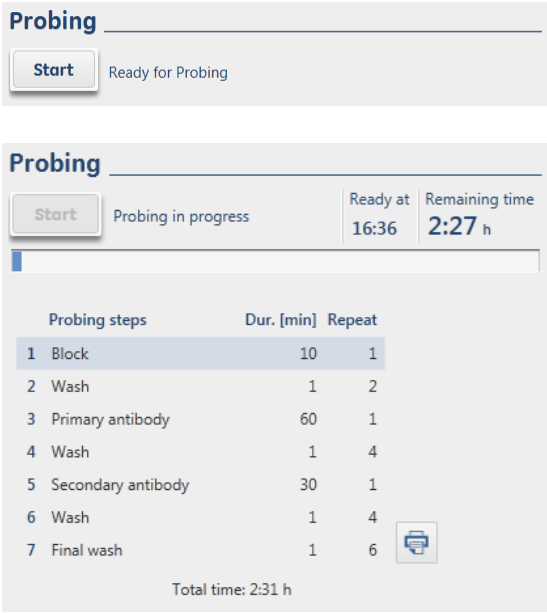
Encher previamente a câmara de sondas e carregar os cartões PVDF

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
1		Encha previamente a câmara de sondas: • Clique na PROBING & DRYING etapa do workflow no software. • Clique em Pre-Fill na área Probing. <i>Resultado:</i> A câmara de sondas é enchida com alguns mililitros da primeira solução na tabela de sequência do teste de sondas (por pré-definição a solução de bloqueio). Nota: <i>Depois da câmara de sondas ter sido enchida previamente:</i> • Já não é possível alterar o tipo da primeira etapa na tabela de sequência do teste de sondas. No entanto, Dur. [min] e Repeat pode ser editado. • O botão Pre-Fill muda para um botão Start e a mensagem de estado Ready for Probing é apresentada.

Passo	Ilustração da etapa	Ações do operador
2		Abra a tampa do compartimento do teste de sondas e use o trinco para abrir a tampa da câmara de sondas.
3		Abra o suporte de transferência e remova a esponja e o papel de transferência em cima do cartão PVDF.
4		• Remova o cartão PVDF do suporte de transferência. Segure nas pegas do cartão PVDF com os dedos ou utilize pinças com ponta plana. • Colocar o cartão PVDF na câmara de sondas, consultar etapa 5. • Para a limpeza do suporte de transferência e tratamento de resíduos, consulte <i>Limpar o suporte de transferência</i>, na página 166.

Passo	Ilustração da etapa	Ações do operador
5		Cartão Coloque o cartão PVDF na câmara de sondas previamente enchida assentando os orifícios do cartão PVDF nos pinos guia (indicados por círculos cor de laranja) e rolando o cartão PVDF na câmara de sondas. Nota: <i>Tenha cuidado para não tocar na área de "blotting" do cartão PVDF.</i>
6		Feche a tampa da câmara de sondas e a tampa do compartimento do teste de sondas. Certifique-se de que a tampa da câmara de sondas está fechada com o trinco.

Iniciar e supervisionar o teste com sondas

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador																								
1		No software, clique na PROBING & DRYING etapa do workflow.																								
2	 <table><thead><tr><th>Probing steps</th><th>Dur. [min]</th><th>Repeat</th></tr></thead><tbody><tr><td>1 Block</td><td>10</td><td>1</td></tr><tr><td>2 Wash</td><td>1</td><td>2</td></tr><tr><td>3 Primary antibody</td><td>60</td><td>1</td></tr><tr><td>4 Wash</td><td>1</td><td>4</td></tr><tr><td>5 Secondary antibody</td><td>30</td><td>1</td></tr><tr><td>6 Wash</td><td>1</td><td>4</td></tr><tr><td>7 Final wash</td><td>1</td><td>6</td></tr></tbody></table> Total time: 2:31 h	Probing steps	Dur. [min]	Repeat	1 Block	10	1	2 Wash	1	2	3 Primary antibody	60	1	4 Wash	1	4	5 Secondary antibody	30	1	6 Wash	1	4	7 Final wash	1	6	Utilize as configurações pré-definidas para o Probing steps na área Probing como apresentado na imagem do ecrã.
Probing steps	Dur. [min]	Repeat																								
1 Block	10	1																								
2 Wash	1	2																								
3 Primary antibody	60	1																								
4 Wash	1	4																								
5 Secondary antibody	30	1																								
6 Wash	1	4																								
7 Final wash	1	6																								
3	 Probing Start Ready for Probing Probing Start Probing in progress Ready at 16:36 Remaining time 2:27 h <table><thead><tr><th>Probing steps</th><th>Dur. [min]</th><th>Repeat</th></tr></thead><tbody><tr><td>1 Block</td><td>10</td><td>1</td></tr><tr><td>2 Wash</td><td>1</td><td>2</td></tr><tr><td>3 Primary antibody</td><td>60</td><td>1</td></tr><tr><td>4 Wash</td><td>1</td><td>4</td></tr><tr><td>5 Secondary antibody</td><td>30</td><td>1</td></tr><tr><td>6 Wash</td><td>1</td><td>4</td></tr><tr><td>7 Final wash</td><td>1</td><td>6</td></tr></tbody></table> Total time: 2:31 h	Probing steps	Dur. [min]	Repeat	1 Block	10	1	2 Wash	1	2	3 Primary antibody	60	1	4 Wash	1	4	5 Secondary antibody	30	1	6 Wash	1	4	7 Final wash	1	6	Clique em Start. <i>Resultado:</i> O teste com sondas é iniciado. A etapa do teste com sondas em curso é apresentada na área Probing.
Probing steps	Dur. [min]	Repeat																								
1 Block	10	1																								
2 Wash	1	2																								
3 Primary antibody	60	1																								
4 Wash	1	4																								
5 Secondary antibody	30	1																								
6 Wash	1	4																								
7 Final wash	1	6																								

5.8.3 Procedimentos após o teste com sondas

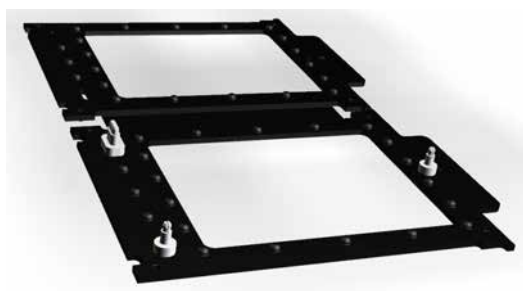
Introdução

Esta secção descreve como:

- colocar o cartão PVDF no suporte de secagem
- colocar o suporte de secagem no compartimento de secagem e iniciar a secagem
- limpar o percurso do fluxo das sondas

Transfira o(s) cartão(ões) PVDF para o compartimento de secagem

Passo	Acção
1	Retire um Amersham WB drying holder (suporte de secagem) do compartimento de secagem e abra-o.



- | | |
|---|--|
| 2 | Cartão Secure nas pegas do cartão PVDF com os dedos, ou utilize pinças com ponta plana, e retire o cartãoPVDF da câmara de sondas. |
|---|--|

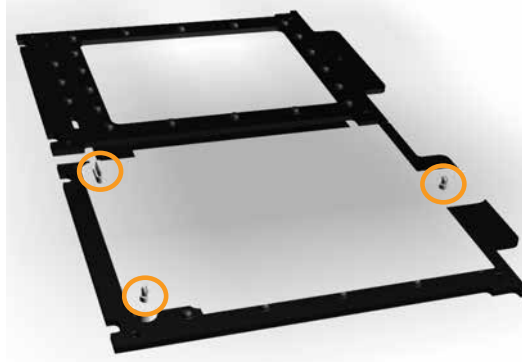
5 Realizar uma experiência

5.8 Efetuar testes com sonda e secagem

5.8.3 Procedimentos após o teste com sondas

Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|---|
| 3 | Coloque o cartão PVDF no suporte de secagem assentando os orifícios do cartão PDVF em cima dos três pinos guia. |
|---|---|



- | | |
|---|--|
| 4 | Feche o suporte de secagem. Certifique-se de que o suporte de secagem está bloqueado com o trinco. |
|---|--|



Passo	Acção
5	Coloque o(s) suporte(s) de secagem na posição correta no compartimento de secagem (isto é, o cartão PVDF na posição do teste com sondas A para a posição de secagem A).



Limpar o percurso do fluxo do teste com sondas

Nota: Antes de proceder à limpeza, transfira o(s) cartão(ões) PVDF para o compartimento de secagem (ver instruções abaixo).

Passo	Acção
1	Quando o teste com sondas estiver concluído, a Probing Completed – Clean Probing Flow Path caixa de diálogo abre.

Nota:

É recomendado limpar o percurso do fluxo do teste com sondas após uma execução.

Se pretender saltar a fase de limpeza do percurso do fluxo do teste com sondas, clique em **Cancel** e siga para Secção 5.8.4 Secagem, na página 181. No entanto, não se esqueça de limpar o percurso do fluxo do teste com sondas, mais tarde, durante a experiência. A limpeza pode ser efetuada selecionando **Control:Clean Probing flow path** na barra de menu.

Se saltou a fase de limpeza, o percurso do fluxo do teste com sondas deve ser esvaziado manualmente, selecionando **Empty Probing chamber** no menu **Control**.

5 Realizar uma experiência

5.8 Efetuar testes com sonda e secagem

5.8.3 Procedimentos após o teste com sondas

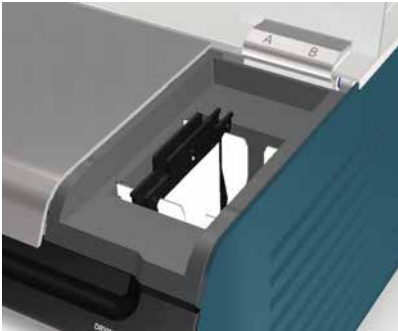
Passo	Acção
2	Insira novos tubos de solução vazios no compartimento de anticorpos. Nota: <i>Insira sempre quatro tubos novos vazios.</i>
3	Limpe a tubagem das sondas P Block, P Wash e P Final Wash com um pano molhado e transfira a tubagem para o frasco com água ultrapura (que contém a P Water tubagem). Na caixa de diálogo do software, verifique a quantidade de água ultrapura necessária para a limpeza, certifique-se de que o frasco contém, pelo menos, essa quantidade de água.
4	Clique em Start clean na caixa de diálogo Probing completed – clean probing system. A limpeza inicia e demora aproximadamente 13 minutos. Nota: <i>A secagem das membranas pode ser iniciada durante a limpeza do percurso do fluxo do teste com sondas.</i>
5	Quando a limpeza estiver concluída, elimine a solução do frasco com água e elimine a água residual dos tubos de solução de anticorpos. Coloque a tubagem num frasco vazio.

5.8.4 Secagem

Introdução

Esta secção descreve como efetuar a secagem de cartões PVDF. A secagem do cartão PVDF fornecerá um contexto baixo e equilibrado, e sinais mais fortes.

Secagem

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
1		Certifique-se de que os suportes de secagem com cartões PVDF foram colocados no compartimento de secagem nas posições corretas (isto é, cartão PVDF na posição de teste com sondas A para posição de secagem A).
2	 Drying Start Ready for Drying Remaining time 10 min	Na PROBING & DRYING etapa do workflow no software, clique em Start na área Drying .

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
3		Quando a secagem estiver concluída: • Abra a tampa do compartimento de secagem. • Remova o(s) suporte(s) de secagem. • O cartão PVDF está pronto para ser examinado. Siga para <i>Secção 5.9 Examinar membrana(s) e ver resultados, na página 183.</i> Nota: <i>Se as membranas não estiverem completamente secas, clique em Start na área Drying para efetuar uma nova secagem.</i>

5.9 Examinar membrana(s) e ver resultados

Introdução

Esta secção descreve como:

- colocar o cartão PVDF na unidade do Elpho & scan
- iniciar e supervisionar o exame
- ver os resultados do exame

Coloque o cartão PVDF no carregador



ATENÇÃO

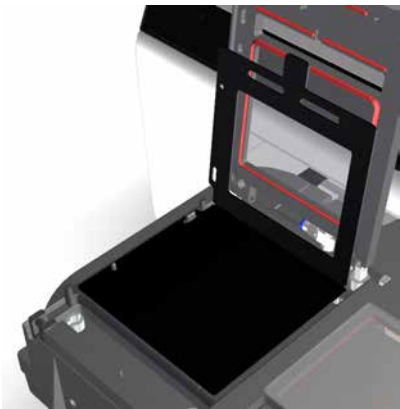
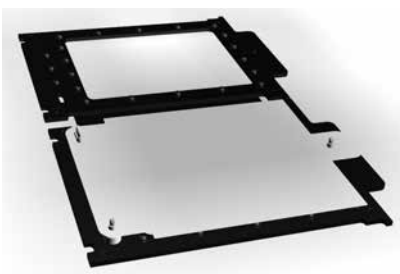
Peças móveis. Tenha cuidado ao abrir/fechar o carregador para evitar que os dedos ou vestuário fiquem presos quando o carregador se movimenta.

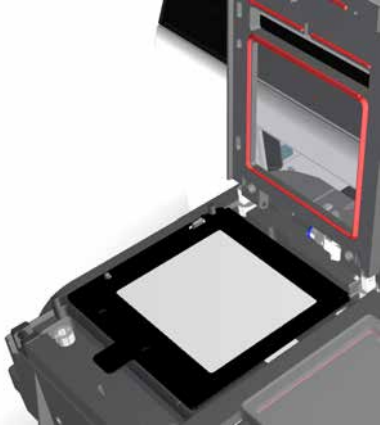
Nunca coloque frascos ou recipientes à frente da unidade do Elpho & scan. Os mesmos podem cair quando o carregador é aberto.

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
1		Cartão Prima o botão ejetar na unidade do Elpho & scan.  <i>Resultado:</i> O carregador é ejetado.
2		• Vire o trinco para cima e abra a tampa de vedação. • Limpe quaisquer líquidos e sujidade do vidro protetor da placa do cartão usando um pano sem pêlos.

5 Realizar uma experiência

5.9 Examinar membrana(s) e ver resultados

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
3		- Remover um adaptador de membrana do compartimento de anticorpos da unidade do Western. Nota: <i>Certifique-se de que o adaptador de membrana está seco e limpo.</i> - Abra o adaptador de membrana e coloque-o na placa do cartão assentando os orifícios guia no adaptador de membrana por cima dos pinos guia. Nota: <i>Tenha cuidado para não arranhar a placa do cartão com objetos afiados.</i>
4		Abra o suporte de secagem.
5		Remova o cartão PVDF do suporte de secagem e coloque-o no adaptador de membrana assentando os orifícios guia em cima dos pinos guia. Nota: <i>Tenha cuidado para não tocar na área de "blotting" do cartão PVDF.</i>

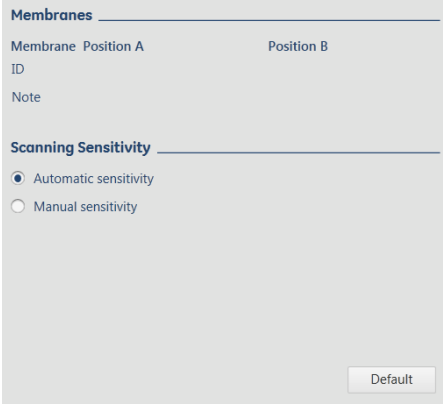
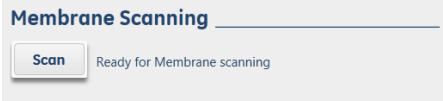
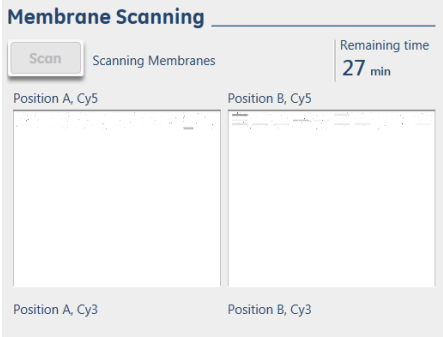
Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
6		Feche o adaptador de membrana.
7		Feche a tampa de vedação.
8		Prima o botão ejetar na unidade do Elpho & scan. <i>Resultado:</i> O carregador está fechado.

Iniciar e supervisionar o exame da membrana

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
1		Cartão No software, clique na MEMBRANE SCANNING etapa do workflow.

5 Realizar uma experiência

5.9 Examinar membrana(s) e ver resultados

Passo	Ilustração da etapa	Acções do operador
2		Utilize as configurações pré-definidas para o exame da membrana, como apresentado na imagem do ecrã.
3		Clique em Scan na área Membrane Scanning . <i>Resultado:</i> O exame da membrana é iniciado.
4		O progresso dos exames é apresentado na área Membrane Scanning . Quando o exame estiver concluído, as imagens da membrana serão apresentadas na área Membrane Scanning .

Visualizar os resultados

Passo	Acção
1	Clique na EVALUATION etapa do workflow no software. <i>Resultado:</i> As imagens na área Membrane Scanning são avaliadas. O progresso da avaliação é apresentado numa barra de progresso.

Passo	Acção
2	Quando a avaliação das imagens estiver concluída, as imagens são apresentadas no ecrã de Avaliação, mostrando os valores normalizados para a experiência no separador Bar chart. Para obter mais informações sobre como analisar os resultados, consulte o <i>User Manual</i> ou a <i>software help</i>.

Procedimentos após o exame da membrana

Passo	Acção
1	Prima o botão de ejetar na unidade do Elpho & scan. <i>Resultado:</i> O carregador é ejetado.
2	Abra a tampa de vedação.
3	Remova o adaptador de membrana com o cartão PVDF da placa do cartão.
4	Remova o cartão PVDF do adaptador de membrana. Sugestão: <i>O cartão PVDF pode ser armazenado em condições secas entre dois papéis de filtro na embalagem individual original do cartão PVDF. Os sinais no cartão PVDF seco são estáveis durante cerca de 3 meses.</i>
5	Limpe os adaptadores de membrana, usando um pano sem pêlos e volte a colocar os adaptadores no espaço de armazenamento no compartimento de anticorpos.
6	Limpe os suportes de secagem usando um pano sem pêlos, e volte a colocar os suportes no compartimento de secagem.
7	Limpe a placa do cartão utilizando um pano sem pêlos, se necessário, molhado com 50% de etanol.
8	Limpe o vidro protetor utilizando um pano sem pêlos, se necessário, molhado com 50% de etanol. Nota: <i>É importante manter o vidro protetor limpo de forma a obter um bom resultado ao examinar cartões em gel e cartões PVDF.</i>
9	Feche a tampa de vedação e prima o botão de ejetar na unidade do Elpho & scan. <i>Resultado:</i> O carregador é inserido.

6 Manutenção

Sobre este capítulo

Esta secção indica as atividades de manutenção periódica que devem ser realizadas pelo utilizador do Amersham WB analyzer, bem como as atividades de manutenção que devem ser realizadas quando necessário.

Precauções



ADVERTÊNCIA

Não utilize o Amersham WB analyzer se não estiver a funcionar correctamente, nem se tiver sofrido qualquer dano como, por exemplo:

- danos no cabo de alimentação ou ficha
- danos causados pela queda do equipamento
- danos noutras peças que possam afetar o funcionamento



ADVERTÊNCIA

Perigo de choque eléctrico. Todas as reparações deverão ser feitas por pessoal de assistência autorizado pela GE. Não abra quaisquer tampas nem substitua peças, exceto se especificamente indicado na documentação do utilizador.



ADVERTÊNCIA

Desligue a alimentação. Desligue sempre a alimentação da unidade do instrumento antes de substituir qualquer componente na mesma, a menos que seja indicado o contrário na documentação do utilizador.

**ADVERTÊNCIA**

Aquando da utilização de químicos perigosos, evite o derramamento e utilize óculos de proteção e outro equipamento de proteção individual adequado. Por exemplo, o NaOH é corrosivo e portanto perigoso para a saúde.

**ADVERTÊNCIA**

Só devem ser utilizadas peças sobressalentes e acessórios aprovados ou fornecidos pela GE para a manutenção ou assistência do sistema.

**ADVERTÊNCIA**

Quando substituir um cabo de alimentação danificado, utilize um cabo do mesmo tipo e com a mesma dimensão do anterior, e que esteja em conformidade com todos os requisitos elétricos locais aplicáveis e aprovado pela GE.

**ADVERTÊNCIA**

Desligue sempre a corrente elétrica antes de substituir o fusível de rede. Para a proteção contínua contra risco de incêndio, substitua apenas por um fusível do mesmo tipo e classificação, conforme indicado nas etiquetas da unidade do instrumento.

**ATENÇÃO**

Aquando da utilização de químicos perigosos, tome todas as medidas de proteção adequadas, tais como a utilização de óculos de proteção e luvas resistentes aos químicos a utilizar. Siga as instruções e os regulamentos nacionais e/ou locais para um funcionamento e manutenção seguros do sistema.

Neste capítulo

Este capítulo contém as seguintes secções:

Secção	Consulte página
6.1 Programa de manutenção	191
6.2 Instruções de manutenção	196

6.1 Programa de manutenção

Introdução

Esta secção lista as atividades de manutenção que devem ser efetuadas pelo utilizador do Amersham WB analyzer. A manutenção está dividida em:

- Após cada execução
 - Manutenção semanal
 - Manutenção mensal
 - Manutenção anual
 - Manutenção quando necessário
-

Programa de manutenção
periódica

A seguinte manutenção periódica deve ser efetuada pelo utilizador do Amersham WB analyzer.

Intervalo	Acção de manutenção	Instruções
Após cada execução na unidade do Elpho & scan		
	• Limpe quaisquer líquidos na placa do cartão. • Limpe quaisquer líquidos ou sujidade do vidro protetor na tampa de vedação • Verifique se o vidro da tampa de vedação tem riscos ou marcas e verifique se o vidro está bem seguro à estrutura • Verifique a janela da tampa de vedação com a estrutura fechada e remova qualquer sujidade	Utilize um pano sem pêlos ou um papel que não risque o vidro protetor ou a placa do cartão. Utilize um pano sem pêlos molhado em 50% de etanol para remover manchas. Contacte a Assistência se necessitar de substituir uma peça da tampa de vedação.
	Limpar os suportes de tiras de tampão	Limpe os suportes de tiras de tampão com água corrente para remover os sais e o tampão. Deixe os suportes de tiras de tampão a secar virados ao contrário.
	Limpar os adaptadores de membrana	Limpe os adaptadores de membrana com um pano sem pêlos e coloque-os no espaço de armazenamento no compartimento de anticorpos.

Intervalo	Acção de manutenção	Instruções
Após cada execução na unidade do Western		
	Limpar o percurso do fluxo de transferência	Se o percurso do fluxo de transferência não tiver sido limpo após a conclusão da transferência, execute o procedimento de limpeza clicando em Control:Clean Transfer flow path na barra de menu.
	Limpar o percurso do fluxo de sondas	Se o percurso do fluxo de sondas não tiver sido limpo após a conclusão do teste com sondas, execute o procedimento de limpeza clicando em Control:Clean Probing flow path na barra de menu.
	Limpar o suporte de transferência	Consulte <i>Limpar o suporte de transferência</i> , na página 166.
	Limpar os suportes de secagem	Limpe os suportes de secagem com um pano sem pêlos e coloque-os no compartimento de secagem.
	Remova quaisquer partículas do reservatório de transferência	Verifique o reservatório e remova quaisquer restos de fibras de papel ou gel utilizando pinças. Verifique o filtro do reservatório de transferência e substitua-o se estiver sujo, consulte <i>Substituir o filtro do reservatório de transferência</i> , na página 209.
	Limpe a parte superior do reservatório de transferência	Limpe a parte superior do reservatório de transferência com um pano molhado.

6 Manutenção

6.1 Programa de manutenção

Intervalo	Acção de manutenção	Instruções
Semanalmente (ou quando o instrumento não for usado durante alguns dias).		
	Limpeza de manutenção do percurso de fluxo de transferência	Consulte <i>Secção 6.2.1 Limpeza semanal dos percursos do fluxo do teste de sondas e transferência</i> , na página 197.
	Limpeza de manutenção do percurso do fluxo de sondas	Consulte <i>Secção 6.2.1 Limpeza semanal dos percursos do fluxo do teste de sondas e transferência</i> , na página 197.
	Verifique e substitua se estiver danificado: - bombas - tubagem - o filtro de ar - filtro de admissão	Consulte <i>Secção 6.2.2 Procedimentos de substituição</i> , na página 200 para mais informações sobre como substituir as cabeças da bomba, o filtro de ar e o filtro de admissão. Contacte a Assistência se necessitar de substituir a tubagem.
	Verifique e aperte os conectores da tubagem	

Intervalo	Acção de manutenção	Instruções
Anualmente		
	Substitua o filtro de ar no módulo de secagem Pode ser necessário substituir o filtro de ar mais frequentemente se o ambiente exterior for mais severo do que o ambiente normal de laboratório no que diz respeito ao pó que existe no ar.	Consulte <i>Substituir filtro de ar</i> , na página 201.
	Substituir a cabeça da bomba de transferência	Consulte <i>Substituir cabeça da bomba de transferência ou de sondas</i> , na página 204.
	Substituir a cabeça da bomba de sondas	Consulte <i>Substituir cabeça da bomba de transferência ou de sondas</i> , na página 204.

Intervalo	Acção de manutenção	Instruções
Quando necessário		
	Limpar o compartimento de secagem	Limpe qualquer pó ou partículas do compartimento de secagem com um pano sem pêlos molhado em água ultra-pura. Deixe o compartimento secar completamente antes de utilizar.
	Substituir os elétrodos de transferência	Consulte <i>Substituir os elétrodos de transferência</i> , na página 207.
	Substituir os suportes de tiras de tampão	Consulte o Amersham WB system User Manual para mais informações sobre encomendas.
	Substitua o fusível elétrico	Consulte <i>Substitua o fusível elétrico</i> , na página 210.
	Substituir um cabo de alimentação danificado	Consulte <i>Precauções</i> no início deste capítulo.
	Substituir o filtro no reservatório de transferência	Verifique o filtro e, se este estiver sujo ou danificado, substitua-o. Consulte <i>Substituir o filtro do reservatório de transferência</i> , na página 209.
	Substituir os filtros de admissão	Consulte <i>Substituir os filtros de admissão</i> , na página 210.

6.2 Instruções de manutenção

Introdução

Esta secção descreve a manutenção a efetuar no Amersham WB analyzer.

Nesta secção

Esta secção contém as seguintes subsecções:

Secção	Consulte página
6.2.1 Limpeza semanal dos percursos do fluxo do teste de sondas e transferência	197
6.2.2 Procedimentos de substituição	200
6.2.3 Movimentar as unidades do instrumento	212

6.2.1 Limpeza semanal dos percursos do fluxo do teste de sondas e transferência

Introdução

Efetue semanalmente a limpeza de manutenção do percurso do fluxo de transferência e do teste de sondas ou se a unidade não for utilizada durante alguns dias.

Limpeza de manutenção do percurso de fluxo de transferência

O procedimento demora cerca de 25 minutos. O teste de sondas e a secagem podem ser executados ao mesmo tempo.

Nota: Certifique-se de que não existem suportes de transferência no reservatório.

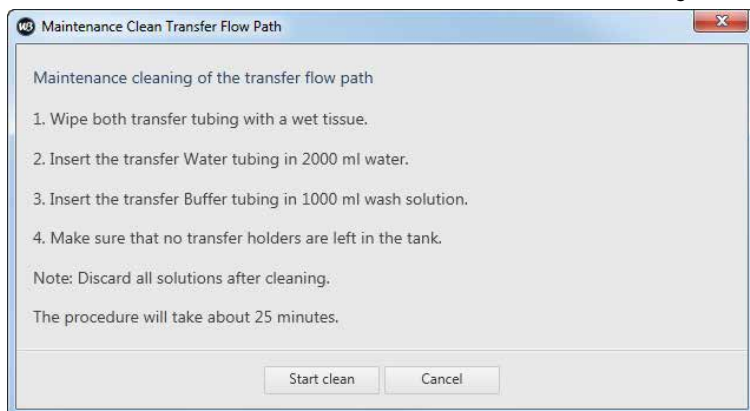


ADVERTÊNCIA

Aquando da utilização de químicos perigosos, evite o derramamento e utilize óculos de proteção e outro equipamento de proteção individual adequado. Por exemplo, o NaOH é corrosivo e portanto perigoso para a saúde.

Passo Acção

- 1 Seleccione no software, **Control:Maintenance clean Transfer flow path** ou clique no botão **Maintenance clean Transfer** no ecrã principal do software.
Resultado: A **Maintenance Clean Transfer Flow Path** caixa de diálogo abre.



Passo	Acção
2	• Limpe a parte superior do reservatório de transferência e ambas as tubagens de transferência com um pano molhado. • Verifique se o filtro do reservatório de transferência se encontra limpo e intacto. Se necessário, substitua o filtro.
3	Mergulhe a tubagem T Water num frasco com 2000 ml de água ultrapura.
4	Mergulhe a tubagem T Buffer num frasco com 1000 ml 0,5 M NaOH.
5	Clique no botão Start clean na caixa de diálogo.
6	Quando a limpeza estiver concluída, transfira a tubagem para um frasco vazio.

Nota: *Elimine todas as soluções após a limpeza.*

Limpeza de manutenção do percurso do fluxo do teste com sondas

O procedimento demora cerca de 45 minutos. A transferência e a secagem podem ser executadas ao mesmo tempo.

Nota: *Certifique-se de que não existem cartões PVDF nas câmaras de sondas.*



ADVERTÊNCIA

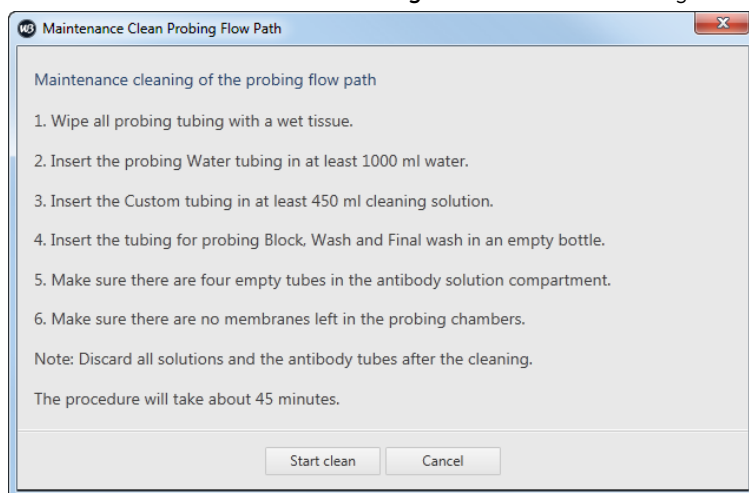
Aquando da utilização de químicos perigosos, evite o derramamento e utilize óculos de proteção e outro equipamento de proteção individual adequado. Por exemplo, o NaOH é corrosivo e portanto perigoso para a saúde.

6.2.1 Limpeza semanal dos percursos do fluxo do teste de sondas e transferência

Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|--|
| 1 | Selecione no software, Control:Maintenance clean Probing flow path ou clique no botão Maintenance clean Probing no ecrã principal do software. |
|---|--|

Resultado: A **Maintenance Clean Probing Flow Path** caixa de diálogo abre.



- | | |
|---|--|
| 2 | Limpe a tubagem das sondas e a tampa e extremidades da câmara de sondas com um pano molhado. |
| 3 | Mergulhe a tubagem P Water num frasco com pelo menos 1000 ml de água ultrapura. |
| 4 | Mergulhe a tubagem P Custom num frasco com pelo menos 450 ml 0,5 M NaOH. |
| 5 | Coloque a tubagem P Block , P Wash e P Final Wash num frasco de resíduos vazio. |
| 6 | Insira e ligue quatro tubos vazios de 15 ml no compartimento de anticorpos. |
| 7 | Clique em Start clean na caixa de diálogo. |
| 8 | Quando a limpeza estiver concluída, transfira a tubagem para um frasco vazio. |

Nota: *Elimine todas as soluções e tubos de anticorpos após a limpeza.*

6.2.2 Procedimentos de substituição

Introdução

Esta secção descreve como substituir:

- o filtro de ar
 - as cabeças da bomba de transferência e de sondas
 - os elétrodos de transferência
 - o filtro do reservatório de transferência
 - filtros de admissão
 - o fusível de rede
-

os acessórios de manutenção

Para efetuar a manutenção do Amersham WB analyzer são necessários os seguintes acessórios:

- cabeça da bomba (para a bomba de transferência ou para a bomba de sondas)
 - o filtro de ar
 - o filtro do reservatório de transferência
 - os elétrodos de transferência
 - conjunto de filtros de admissão
 - fusíveis (para fusíveis corretos. consulte *Secção 7.1 Especificações do sistema, na página 214*)
-

Precauções



ADVERTÊNCIA

Desligue a alimentação. Desligue sempre a alimentação da unidade do instrumento antes de substituir qualquer componente na mesma, a menos que seja indicado o contrário na documentação do utilizador.



ADVERTÊNCIA

Remova quaisquer frascos do suporte para frascos antes de abrir a tampa do compartimento de assistência.

Substituir filtro de ar

As instruções abaixo descrevem como substituir o filtro de ar.

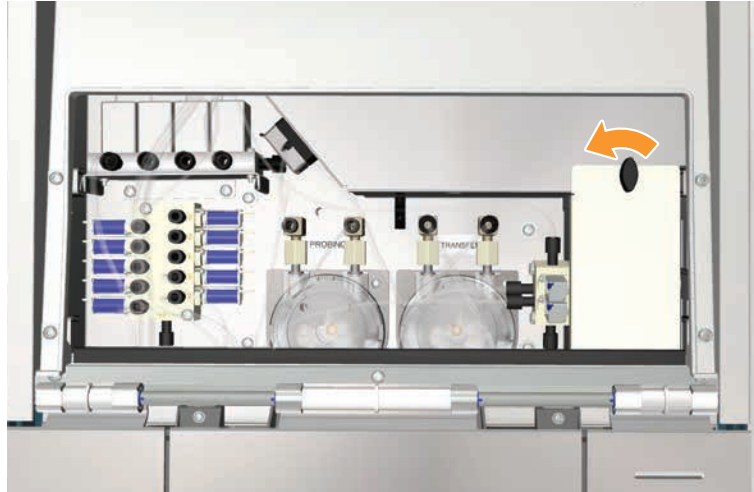
Passo	Ação
-------	------

- | | |
|---|---|
| 1 | Abra a tampa do compartimento de assistência. |
|---|---|

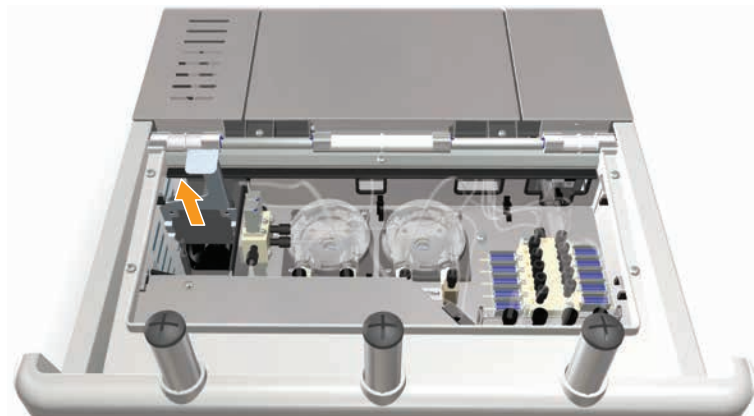


Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|---|
| 2 | Abra a tampa por cima do compartimento onde está localizado o filtro rodando a porca para a esquerda e removendo-a. |
|---|---|



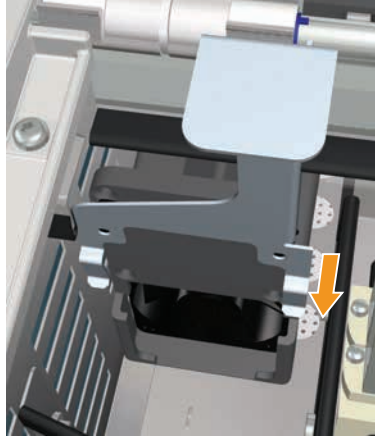
- | | |
|---|---|
| 3 | Remova o filtro da estrutura puxando-o para cima usando o suporte anexoado. |
|---|---|



- | | |
|---|--|
| 4 | Remova a parte superior da grelha de plástico no suporte, onde está localizado o filtro. |
| 5 | Substitua o filtro por um novo e fixe a parte superior da grelha de plástico. |

Passo	Ação
-------	------

- | | |
|---|---|
| 6 | Insira o suporte com um novo filtro nos guias da estrutura. |
|---|---|



- | | |
|---|--|
| 7 | Coloque novamente a tampa do compartimento do filtro no sítio e aperte a porca rodando-a para a direita. |
| 8 | Feche a tampa do compartimento de assistência. |

Substituir cabeça da bomba de transferência ou de sondas

As instruções abaixo descrevem como substituir uma cabeça da bomba, usando a bomba de sondas como exemplo. A substituição da cabeça de transferência é semelhante.

Passo	Ação
-------	------

- | | |
|---|--|
| 1 | Abra a tampa do compartimento de assistência para aceder às bombas de sondas e de transferência. |
|---|--|



Nota:

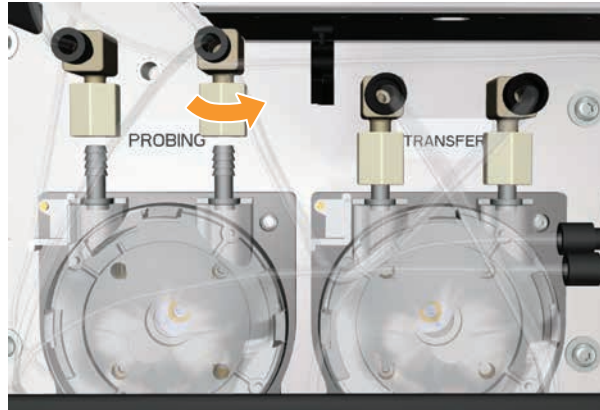
A bomba de sondas está localizada à esquerda e a bomba de transferência à direita.

- | | |
|---|---|
| 2 | Desligue a tubagem da bomba do lado esquerdo. |
|---|---|



Passo	Ação
-------	------

- | | |
|---|--|
| 3 | Desligue a tubagem da bomba do lado direito. |
|---|--|

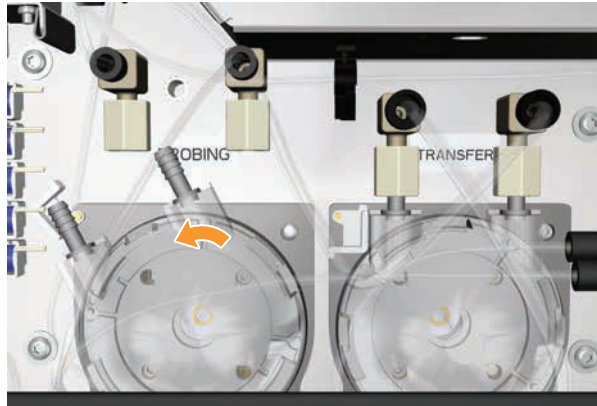


- | | |
|---|--|
| 4 | Desbloqueie o encaixe que mantém a cabeça da bomba na sua posição. |
|---|--|



Passo	Acção
-------	-------

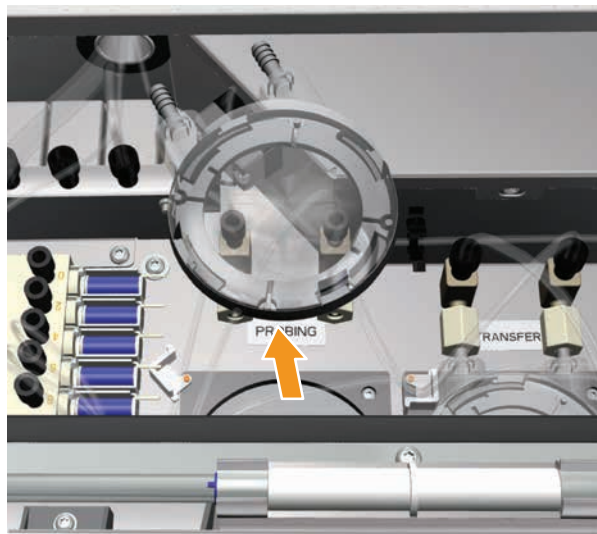
- | | |
|---|---|
| 5 | Vire a cabeça da bomba para a esquerda. |
|---|---|



- | | |
|---|---|
| 6 | Retire a cabeça da bomba do compartimento de assistência. |
|---|---|

Nota:

Ao remover a cabeça tenha cuidado para não danificar ou dobrar a tubagem na unidade Western. Se a tubagem ficar danificada ou dobrada é necessário substituí-la por tubagem nova. Contacte a Assistência para obter ajuda.



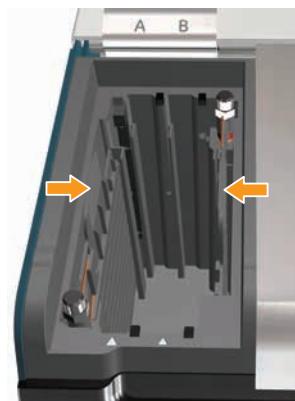
- | | |
|---|---|
| 7 | Retire a nova cabeça da bomba da embalagem. |
|---|---|

Passo	Acção
8	Coloque a nova cabeça da bomba na posição correta e rode-a para a direita. Nota: <i>Certifique-se de que a roda correspondente à cabeça da bomba está na posição correta de forma a encaixar no eixo do motor da bomba.</i>
9	Bloqueie o encaixe para manter a cabeça da bomba na posição correta.
10	Ligue a tubagem da bomba do lado direito ao conector direito da cabeça da bomba.
11	Ligue a tubagem da bomba do lado esquerdo ao conector esquerdo da cabeça da bomba.
12	Feche a tampa do compartimento de assistência.

Substituir os elétrodos de transferência

Se o procedimento de transferência falhar, a razão pode ser elétrodos de transferência defeituosos. É recomendado substituir ambos os elétrodos. As instruções abaixo descrevem como substituir os elétrodos de transferência.

Passo	Acção
1	Abra a tampa do reservatório de transferência. Os elétrodos estão localizados em ambos os lados.

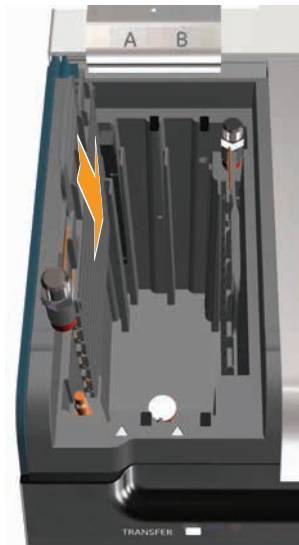


Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|----------------------------|
| 2 | Puxe o eléctrodo para cima |
|---|----------------------------|



- | | |
|---|---|
| 3 | Insira o novo eléctrodo e pressione para baixo. |
|---|---|



- | | |
|---|--|
| 4 | Repita o procedimento da mesma forma para o eléctrodo do lado direito. |
| 5 | Feche a tampa do reservatório de transferência. |

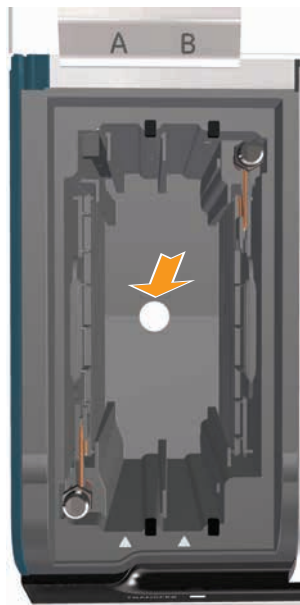
Substituir o filtro do reservatório de transferência

Nota: Se o filtro de transferência estiver sujo, não é possível remover, limpar e colocá-lo de volta. O filtro tem de ser substituído.

As instruções abaixo descrevem como substituir o filtro do reservatório de transferência.

Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|---|
| 1 | Abra a tampa do reservatório de transferência. O filtro está localizado no fundo do reservatório de transferência |
|---|---|



- | | |
|---|---|
| 2 | Perfure através da parte central do filtro utilizando pinças. |
|---|---|

Nota:

Não remova o filtro pegando nas extremidades, pois pode danificar a vedação do filtro.

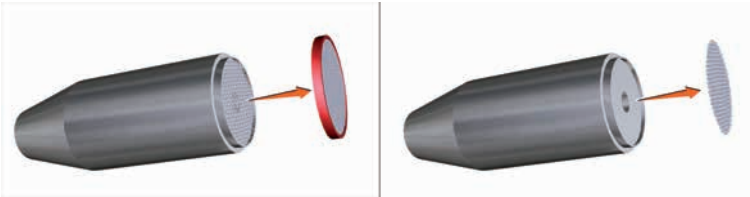
- | | |
|---|---|
| 3 | Utilize o orifício para segurar e remover o filtro. |
| 4 | Coloque o novo filtro e empurre-o com cuidado, sobre a vedação do filtro. |

Substituir os filtros de admissão

Substitua o filtro de admissão sempre que necessário, por exemplo, quando os filtros estiverem entupidos.

Material necessário: Conjunto de filtros de admissão.

Siga as instruções abaixo para substituir um filtro de admissão e uma rede de suporte.

Passo	Acção
1	Retire o filtro de admissão e a rede de suporte do suporte do filtro de admissão.
	
2	Coloque a nova rede de suporte e filtro de admissão no suporte do filtro de admissão e pressione o filtro na posição correta.

Substitua o fusível elétrico



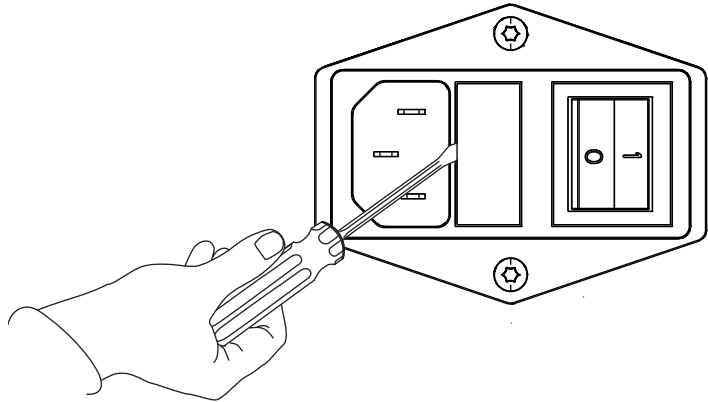
ADVERTÊNCIA

Desligue sempre a corrente elétrica antes de substituir o fusível de rede. Para a proteção contínua contra risco de incêndio, substitua apenas por um fusível do mesmo tipo e classificação, conforme indicado nas etiquetas da unidade do instrumento.

Passo	Acção
1	Desligue o Amersham WB analyzer configurando o botão de alimentação elétrica nos lados posteriores das unidades Elpho & scan e Western para a posição 0off (desligado).
2	Desligue os cabos de alimentação elétrica das entradas elétricas nas unidades Elpho & scan e Western.
3	Localize a gaveta dos fusíveis no painel do conector na unidade correta.

Passo	Ação
-------	------

- | | |
|---|--|
| 4 | Introduza uma chave de parafusos pequena no entalhe junto à gaveta dos fusíveis. |
|---|--|



- | | |
|---|---|
| 5 | Rode a chave de parafusos para abrir a gaveta dos fusíveis. |
| 6 | Substitua os fusíveis.
Para obter dados sobre os fusíveis, procure as etiquetas das unidades do instrumento nos painéis posteriores. |
| 7 | Introduza a gaveta dos fusíveis no respectivo receptáculo no painel conector. |

6.2.3 Movimentar as unidades do instrumento

Precauções



ATENÇÃO

Equipamento de protecção individual (EPI). Sempre que embalar, desembalar, transportar ou deslocar o sistema, usar:

- Calçado de protecção, de preferência com revestimento em folha de aço
- Luvas de trabalho, de protecção contra extremidades afiadas.
- Óculos de protecção



ATENÇÃO

Objecto pesado. São necessárias duas pessoas para levantar os instrumentos em segurança.



ATENÇÃO

Nunca mova a unidade do Western com os frascos colocados sobre a unidade.



AVISO

Desligue os cabos. Para evitar danos no equipamento, desligue sempre os cabos antes de mover uma unidade do instrumento.

Instruções para a elevação

Passo	Acção
-------	-------

- | | |
|---|--|
| 1 | Desligue todos os fios e cabos das unidades do instrumento e remova quaisquer frascos das unidades. |
| 2 | São necessárias duas pessoas. Para levantar uma unidade, segure com as duas mãos cada lado da unidade e levante. |

7 Informações de referência

Sobre este capítulo

Este capítulo lista as especificações técnicas do Amersham WB analyzer. O capítulo também inclui um guia de resistência química e um relatório de descontaminação que deve ser utilizado para registrar os detalhes sobre a descontaminação antes de uma assistência.

Neste capítulo

Este capítulo contém as seguintes secções:

Secção	Consulte página
7.1 Especificações do sistema	214
7.2 Guia de resistência química	219
7.3 Formulário de declaração de saúde e segurança	221
7.4 Tradução de acessórios e consumíveis	223

7.1 Especificações do sistema

Introdução

Esta secção lista os dados de especificação do sistema do Amersham WB analyzer.

Intervalos ambientais

Parâmetro	Dados
Intervalo da temperatura de transporte e armazenamento	-25°C a +60°C
Ambiente químico	Consulte <i>Secção 7.2 Guia de resistência química, na página 219.</i>

Intervalo de funcionamento

Parâmetro	Limites
Intervalo da temperatura de funcionamento	15 °C a 32 °C Para um máximo desempenho: 16°C a 28°C
Humidade relativa	20% a 80%, sem condensação Para um máximo desempenho: 20% a 70%, sem condensação
Altitude	Máximo 2000 m
Grau de poluição	2
Nível transitório	Categoria de sobretensão II
Ambiente	Apenas utilização interna

Especificações do sistema Amersham WB analyzer

Parâmetro	Dados
Configuração do sistema	Sistema de bancada constituído por um computador externo e duas unidades: unidade Elpho & scan e unidade Western O computador não está incluído na entrega.
Controlo do sistema operativo do computador	PC com Windows 7
Software de controlo	Amersham WB software
Ligação entre as unidades Elpho & scan e Western	Cabo Ethernet
Ligação entre o PC e a unidade Elpho & scan	Cabo USB (do Tipo A ao Tipo B)
Grau de poluição	2
Nível sonoro	Inferior a 80 dB (A)

Especificações do sistema da unidade Elpho & scan

Parâmetro	Dados
Dimensões (L x P x A)	47 x 51 x 27 cm
Peso (excluindo o computador)	25 kg
Fonte de alimentação	Tensão: 100-240 V CA $\pm 10\%$ Frequência: 50-60 Hz
Consumo de energia	Potência máx. 300 VA
Fusível	2x T4AH 250 V

Especificações do scanner

Parâmetro	Dados
Sensor de imagem	Fotodíodo de silício
Tempo de aquecimento	Pelo menos 1 minuto Nota: <i>O aquecimento está incluído no modo de sensibilidade automática.</i>
Lentes	F1.0/13 mm
Fonte de iluminação	Cy5: Módulo díodo laser, 635 nm, 10 mW
	Cy3: Módulo díodo laser, 532 nm, 10 mW.
Funcionamento	Totalmente automatizado (exposição automática, sem foco ou qualquer outro ajuste ou calibração necessária)
Tamanho máximo da amostra	2 amostras de aproximadamente 80 x 65 mm ²
Escala de cinza	65 536 níveis (16 bits)
Intervalo dinâmico	4,6 ordens de magnitude
Saída de imagem	Escala de cinza de 16 bits (tif)

Especificações da separação

Parâmetro	Descrição
Tensão	250-600 V ¹
Corrente	20-50 mA ¹

¹ A potência máxima é de 20 W/cartão em gel. Os valores máximos para os parâmetros não podem ser atingidos ao mesmo tempo.

Especificações do sistema da unidade Western

Parâmetro	Dados
Dimensões (L x P x A)	43 x 53 x 39 cm
Peso	20 kg
Fonte de alimentação	Tensão: 100-240 V~ Frequência: 50-60 Hz
Consumo de energia	Potência máx. 400 VA
Fusível	2x T4AH 250 V
Tubagem e conectores de transferência	Material dos tubos: FEP, ID 1/8 pol. Cone de vedação azul Conector da tubagem: Porca 5/16 pol.- 24UNF 2-A
Tubagem e conectores de sondas	Material dos tubos: FEP, ID 0,063 pol. Cone de vedação amarelo Conector da tubagem: Porca 1/4 pol.- 28UNF 2-B

Especificações da transferência

Parâmetro	Descrição
Tensão	10-100 V ¹

¹ A potência máxima é de 40 W. A corrente máxima é de 400 mA.

Especificações das sondas

Parâmetro	Descrição
Volumes, sondas de anticorpos	5-12 ml

Especificações da secagem

Parâmetro	Descrição
Temperatura	Máximo 45°C
Tempo de secagem	10 minutos

7.2 Guia de resistência química

Introdução

Esta secção especifica a resistência química do Amersham WB analyzer para alguns dos químicos mais comuns utilizados em electroforese e Western blotting.

Suposições efectuadas

As classificações têm por base os seguintes pressupostos:

- Os efeitos de sinergia das misturas químicas não foram tidos em conta.
- A temperatura ambiente e a pressão excessiva limitada são assumidas.

Nota: *As influências químicas dependem do tempo e da pressão. A menos que seja indicado o contrário, todas as concentrações são a 100%.*

Lista de químicos

Para ver uma lista de químicos utilizados nos cartões em gel e nas tiras de tampão, consulte a Ficha de Dados de Segurança (SDS/MSDS).

Utilização	Concentração	Concentração	N.º CAS e n.º EC
Descrição geral	Solução tampão pH 4-10 (ex., Tris, Glicina, Fosfato)	0-0,2 M	N/D
Transferência	Etanol	40%	64-17-5/200-578-6
	Metanol	40%	67-56-1/200-659-6
Transferência & Teste com sondas	Cloreto de sódio	0,2 M	7647-14-5/231-598-3
	Cloreto de potássio	50 mM	7447-40-7/231-211-8
	Tween	1%	9005-64-5/500-018-3
Limpeza dos percursos de fluxo	Hidróxido de sódio	0,5 M	1310-73-2/215-185-5
	Hipoclorito de sódio	5%	7681-52-9/231-668-3
Limpeza da placa do cartão	Etanol	50%	64-17-5/200-578-6

7 Informações de referência

7.2 Guia de resistência química

Utilização	Concentração	Concentração	N.º CAS e n.º EC
Limpeza de superfícies	Etanol	96%	64-17-5/200-578-6
	Detergentes suave	N/D	N/D

7.3 Formulário de declaração de saúde e segurança

Assistência no local

Um relatório On Site Service Health & Safety Declaration Form como apresentado no exemplo abaixo, deve ser utilizado para registrar detalhes sobre a descontaminação antes de uma assistência no local.



On Site Service Health & Safety Declaration Form

Service Ticket #:	
--------------------------	--

To make the mutual protection and safety of GE service personnel and our customers, all equipment and work areas must be clean and free of any hazardous contaminants before a Service Engineer starts a repair. To avoid delays in the servicing of your equipment, please complete this checklist and present it to the Service Engineer upon arrival. Equipment and/or work areas not sufficiently cleaned, accessible and safe for an engineer may lead to delays in servicing the equipment and could be subject to additional charges.

Yes	No	Please review the actions below and answer "Yes" or "No". Provide explanation for any "No" answers in box below.
		Instrument has been cleaned of hazardous substances. Please rinse tubing or piping, wipe down scanner surfaces, or otherwise ensure removal of any dangerous residue. Ensure the area around the instrument is clean. If radioactivity has been used, please perform a wipe test or other suitable survey.
		Adequate space and clearance is provided to allow safe access for instrument service, repair or installation. In some cases this may require customer to move equipment from normal operating location prior to GE arrival.
		Consumables, such as columns or gels, have been removed or isolated from the instrument and from any area that may impede access to the instrument.
		All buffer / waste vessels are labeled. Excess containers have been removed from the area to provide access.
		Provide explanation for any "No" answers here:
Equipment type / Product No:		Serial No:
I hereby confirm that the equipment specified above has been cleaned to remove any hazardous substances and that the area has been made safe and accessible.		
Name:	Company or institution:	
Position or job title:	Date (YYYY/MM/DD):	
Signed:		

GE and GE monogram are trademarks of General Electric Company.
GE Healthcare Bio-Sciences Corp, 800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327
© 2010-14 General Electric Company—All rights reserved. First published April 2010.

DOC1149542/28-9800-26 AC 05/2014

Devolução ou reparação do produto

Um relatório Health & Safety Declaration Form for Product Return or Servicing como apresentado no exemplo abaixo, deve ser utilizado para registar detalhes sobre a descontaminação antes de uma devolução do produto ou assistência.



Health & Safety Declaration Form for Product Return or Servicing

Return authorization number:		and/or Service Ticket/Request:	
------------------------------	--	--------------------------------	--

To make sure the mutual protection and safety of GE personnel, our customers, transportation personnel and our environment, all equipment must be clean and free of any hazardous contaminants before shipping to GE. To avoid delays in the processing of your equipment, please complete this checklist and include it with your return.

1. Please note that items will NOT be accepted for servicing or return without this form
2. Equipment which is not sufficiently cleaned prior to return to GE may lead to delays in servicing the equipment and could be subject to additional charges
3. Visible contamination will be assumed hazardous and additional cleaning and decontamination charges will be applied

Yes	No	Please specify if the equipment has been in contact with any of the following:
		Radioactivity (please specify)
		Infectious or hazardous biological substances (please specify)
		Other Hazardous Chemicals (please specify)

Equipment must be decontaminated prior to service / return. Please provide a telephone number where GE can contact you for additional information concerning the system / equipment.

Telephone No:			
Liquid and/or gas in equipment is:	☐	Water	
	☐	Ethanol	
	☐	None, empty	
	☐	Argon, Helium, Nitrogen	
	☐	Liquid Nitrogen	
	☐	Other, please specify	

Equipment type / Product No:		Serial No:	
------------------------------	--	------------	--

I hereby confirm that the equipment specified above has been cleaned to remove any hazardous substances and that the area has been made safe and accessible.

Name:		Company or institution:	
Position or job title:		Date (YYYY/MM/DD)	
Signed:			

To receive a return authorization number or service number, please call local technical support or customer service.

GE and GE monogram are trademarks of General Electric Company.
GE Healthcare Bio-Sciences Corp. 800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, US
© 2010-14 General Electric Company—All rights reserved. First published April 2010.

DOC114954A/Z8-9880-27 AC 05/2014

7.4 Tradução de acessórios e consumíveis

Nome do produto em Inglês	Tradução
Amersham WB labeling buffer	Tampão de etiquetagem
Amersham WB loading buffer	tampão de carregamento
Amersham WB molecular weight markers	marcadores de peso molecular
Amersham WB gel card 14, 8-18%	cartão em gel
Amersham WB gel card 14, 13.5%	cartão em gel
Amersham WB buffer strip	Tira de tampão
Amersham WB PVDF card	PVDF cartão
Amersham WB transfer paper	papel de transferência
Amersham WB goat anti-rabbit Cy3/Cy5	cabra anti-coelho Cy3/Cy5
Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5	cabra anti-rato Cy3/Cy5
Amersham WB paper comb	pente para papel
Amersham WB buffer strip holder	suporte da tira de tampão
Amersham WB transfer holder	suporte de transferência
Amersham WB sponge	esponja
Amersham WB membrane adapter	adaptador de membrana
Amersham WB drying holder	suporte de secagem

Índice

A

- Adaptador de membrana
 - Colocar na placa do cartão, 184
 - Descrição, 85
 - Limpar, 187, 192
- Anticorpo (secundário)
 - Armazenamento de anticorpos reconstituídos, 64
 - Armazenamento liofilizado de anticorpos, 64
 - Corantes Cy conjugados, 82
 - Descrição, 82

C

- Cabeça da bomba
 - Substituir cabeça da bomba de transferência ou de sondas, 204
- Carregar amostras, 137
- Cartão em gel
 - Colocar na placa do cartão, 135
 - Composição, 70
 - Descrição geral da desmontagem, 153
 - Remova as películas protetoras antes da electroforese, 134
 - Resolução de separação de proteínas, 70
 - Selecione o tipo, 122
 - Solte a estrutura de gel do suporte de gel, 154
 - Tipos, 70
- CE
 - conformidade, 10
- Compartimento de anticorpos
 - Descrição, 53
 - Ligar soluções de anticorpos, 170
- Compartimento de assistência
 - Descrição, 54
 - Substituir cabeças da bomba, 204

- Substituir filtro de ar, 201
- Compartimento de secagem
 - Descrição, 52
 - Limpar, 195
- Compartimento do teste com sondas
 - Descrição, 51
- Conformidade FCC, 12
- Consumíveis
 - Armazenamento, 62
 - Encomenda, 62
- Convenções tipográficas, 7
- Corante Cy
 - Comprimento de onda de emissão, 82
 - Comprimento de onda de excitação, 82

D

- Descontaminação, 34
- Descrição geral do workflow
 - Geral, 116
 - Western com normalização de proteína total, 117
- Documentação
 - documentação do utilizador, 14
 - Ficheiros de dados e notas da aplicação, 15
 - Manual do método, 15

E

- Electroforese
 - Carregar amostras, 137
 - Colocar suportes da tira de tampão Elpho & scan unida-de, 132
 - Coloque as tiras de tampão nos seus suportes, 131
 - Iniciar e supervisionar, 138
 - Preparar, 131
 - Procedimentos após, 140
 - Remover cartão em gel, 140
- Elétrodos de transferência
 - Instalar, 98

- Substituir elétrodos de transferência, 207
- Eliminação, instruções gerais, 34
- Eliminação de componentes elétricos, 34
- Elpho & examinar unidade
 - Iniciar, 119
- Elpho & scan carregador, 42
- Elpho & scan unidade, 40
 - Abrir, 132
 - Limpar, 141
- Elpho & scan unidadet
 - Fechar, 137
- Esponja
 - Colocar no suporte de transferência, 152
 - Descrição, 81
- Exame
 - Preparativos antes, 183
 - Procedimentos após, 187
- Exame do cartão
 - PVDF , 183
- Experiência
 - Criar, 122
 - Experiências de electroforese, 115
 - experiênciasWestern , 115
 - Inserir a informação dos anticorpos, 124
 - Insira a informação da amostra, 123
- Experiência de electroforese
 - Descrição, 115
 - Descrição geral experiência, 116

F

- Filtro de admissão
 - Anexar os filtros de admissão à tubagem, 104
 - Substituir o filtro de admissão, 210
 - Suporte do filtro de admissão, 86
- Filtro de ar
 - Substituir filtro de ar, 201
- Filtro do reservatório de transferência

- Substituir o filtro do reservatório de transferência, 209
- Formulário de Declaração de Saúde e Segurança, 221–222
- Fusível de rede
 - Substituir o fusível de rede, 210

G

- Guias de secagem da membrana
 - Instalar guias de secagem da membrana, 106

I

- Indicadores, 38
- Informação regulamentar, 10
 - Conformidade ambiental, 12
 - Cumprimento de regulamentação sobre equipamento ligado, 13
 - Normas internacionais, 11
 - Regulamentos e normas relativos a laser, 12
- Informações de fabrico, 10
- Informações sobre a encomenda
 - Encomenda de consumíveis, 62
- Instalação
 - Instalação do Software, 109
 - Instalar elétrodos de transferência, 98
 - Instalar guias de secagem da membrana, 106
 - Instalar leitor de etiquetas de matriz, 108
 - Montar torres de tubagem, 102
 - Requisitos da sala, 92
 - requisitos de espaço, 93
 - Requisitos do computador, 94
- Instrumento
 - Elpho & scan carregador, 42
 - Elpho & scan unidade, 40
 - Indicadores, 38
 - Ligar ao computador, 101

- Ligar as unidades do instrumento, 101
- Ligar cabos de alimentação, 102
- Verificar a ligação do instrumento, 113
- Western unidade, 45
- Interruptores de segurança, 36

L

- Leitor de etiquetas de matriz
 - Descrição, 86
 - Instalar o leitor de etiquetas de matriz, 108

Limpar

- Adaptador de membrana, 187, 192
- Compartimento de secagem, 195
- Elpho & scan unidade, 141
- Percurso do fluxo de sondas, 193
- Percurso do fluxo de transferência, 165, 193
- Percurso do fluxo do teste com sondas, 179
- Reservatório de transferência, 193
- Suporte de secagem, 187, 193
- Suporte de tiras de tampão, 141, 192
- Suporte de transferência, 166

M

- Manutenção
 - acessórios, 200
 - Limpeza de manutenção do percurso do fluxo de transferência, 197
 - Limpeza de manutenção do percurso do fluxo do teste com sondas, 198
 - Programa de manutenção, 188
 - Substituir cabeça da bomba de transferência ou de sondas, 204

- Substituir eletrodos de transferência, 207
- Substituir filtro de ar, 201
- Substituir o filtro de admissão, 210
- Substituir o filtro do reservatório de transferência, 209
- Substituir o fusível de rede, 210

- Marcação CE, 11

- Marcadores MW

- Ilustração, 68

- Proteínas, 69

N

- Normas internacionais, 11

- Notas de segurança, 9

- Notas e sugestões, 9

P

- Papel de transferência

- Descrição, 80

- Pente para papel

- Descrição, 75

- Procedimento, 139

- Precauções de segurança introdução, 17

- Pré-etiquetagem, 125

- pH da amostra, 126

- Preparativos, 127

- Soluções e materiais necessários, 126

- Tampões de lise compatíveis, 126

- Western protocolo de pré-etiquetagem, 128

- Procedimentos após a electroforese, 140

- Procedimentos de emergência

- Encerramento de emergência, 32

- Falha de alimentação, 32

- PVDF

- Colocar na câmara de sondas, 175

- Colocar na unidade Elpho & scan, 183

- Iniciar e supervisionar o exame, 185
- Preparar, 148
- Transferir para o compartimento de Secagem, 177
- PVDF cartão
 - Descrição, 79

R

- Receitas
 - Soluções de anticorpos, 168
 - Soluções de sondas, 168
 - Soluções de transferência, 143
- Reciclagem de substâncias perigosas, 34
- Remova a tampa do poço de amostras, 136
- Requisitos da sala, 92
- Requisitos de espaço, 93
- Requisitos do computador, 94
- Reservatório de transferência
 - Carregar sanduíche de transferência, 161
 - Descrição, 50
 - Limpar, 193

S

- Sanduíche de transferência
 - Carregar para o reservatório de transferência, 161
 - Descrição geral da montagem, 146
 - Materiais, 145
 - Preparar, 145
- Secagem
 - Iniciar e supervisionar, 181
- Segurança de transporte
 - Remover, 98
- Software
 - Descrição geral, 88
 - iniciar, 121
 - Instalação, 109
- Soluções
 - Anticorpos, 168
 - Bloqueio, 168
 - Ligar soluções de anticorpos, 170
 - Ligar soluções de testes com sondas, 169

- Ligar soluções de transferência, 144
- Sondas, 168
- Transferência, 143
- Sondas
 - Preparar sondas e soluções de anticorpos, 168
- Suporte da tira de tampão
 - Coloque na unidade do Elpho & scan , 132
- Suporte da tubagem
 - Anexar, 104
- Suporte de secagem, 84
 - Limpar, 187, 193
- Suporte de tiras de tampão
 - Descrição, 73
 - Limpar, 141, 192
- Suporte de transferência
 - Descrição, 77
 - Limpar, 166
 - Remova após a execução, 164
- Suporte de tubagem
 - Descrição, 87
- Suporte do filtro de admissão
 - Descrição, 86

T

- Tampões
 - Tampões de lise, 126
- Tampões e soluções
 - Água ultrapura, limpeza, 143, 168
 - Solução de anticorpos, sondas, 168
 - Solução de bloqueio, 168
 - Tampão de lavagem, sondas, 168
 - Tampão de lavagem final, sondas, 168
 - Tampão de transferência, 143
- Teste com sondas
 - Encher previamente a câmara de sondas, 173
 - Iniciar e supervisionar, 176
 - Ligar soluções de anticorpos, 170
 - Limpar o percurso do fluxo, 193

- Limpar percurso do fluxo, 179
- Limpeza de manutenção do percurso do fluxo, 198
- Percurso do fluxo líquido, 58
- Princípio básico do processo de teste com sondas, 59
- Substituir cabeça da bomba de sondas, 204
- Testes com sondas
 - Ligar soluções de testes com sondas, 169
- Tira de tampão
 - Coloque no suporte da tira de tampão, 131
 - Descrição, 73
- Torres de tubagem
 - Montar, 102
- Transferência
 - Iniciar e supervisionar, 162
 - Ligar soluções, 144
 - Limpar o percurso do fluxo de transferência, 193
 - Limpeza de manutenção do percurso do fluxo, 197
 - Percurso do fluxo líquido, 56
 - Preparar e ligar soluções, 143
 - Princípio básico do processo de transferência, 57

- Substituir cabeça da bomba de transferência, 204
- Substituir eletrodos de transferência, 207
- Substituir o filtro do reservatório de transferência, 209

V

- Verificar a ligação do instrumento, 113
- Ver resultados, 186

W

Western

- Compartimento de anticorpos, 53
- Compartimento de assistência, 54
- Compartimento de secagem, 52
- Compartimento do teste com sondas, 51
- Descrição, 115
- Descrição geral, 116
- Reservatório de transferência, 50
- Western protocolo de pré-etiquetagem, 128
- Western unidade, 45
 - Iniciar, 120

Página deixada intencionalmente em branco

Para obter informações de contacto do escritório local, visite
www.gelifesciences.com/contact

GE Healthcare UK Limited
Amersham Place
Little Chalfont
Buckinghamshire, HP7 9NA
Reino Unido
www.gelifesciences.com

Os monogramas GE e GE são marcas comerciais da General Electric Company.

Amersham, Cy, CyDye, MiniTrap e Sephadex são marcas comerciais da GE Healthcare ou de uma das suas subsidiárias.

Microsoft e Windows são marcas comerciais registadas da Microsoft Corporation.

Tween é uma marca comercial da Uniqema Americas LLC.

CyDye: Este produto é fabricado ao abrigo de uma licença exclusiva da Carnegie Mellon University e está abrangido pelos números de patentes norte-americanas 5.569.587 e 5.627.027.

A aquisição de produtos CyDye inclui uma licença limitada para utilização dos produtos CyDye para pesquisa e desenvolvimento a nível interno e não para quaisquer fins comerciais. Uma licença para utilizar os produtos CyDye para fins comerciais está sujeita a um acordo de licença separado com a GE Healthcare.

Todas as outras marcas comerciais são propriedade dos seus respectivos detentores.

© 2014-2015 General Electric Company – Todos os direitos reservados.

Primeira publicação em Março de 2014

Todos os bens e serviços são vendidos sujeitos aos termos e condições de venda da empresa da GE Healthcare que os abasteça. Uma cópia destes termos e condições está disponível mediante pedido. Contacte o representante local da GE Healthcare para obter as informações mais actualizadas.

GE Healthcare Bio-Sciences AB
Björkgatan 30, 751 84 Uppsala, Sweden

GE Healthcare Europe GmbH
Munzinger Strasse 5, D-79111 Freiburg, Germany

GE Healthcare Bio-Sciences Corp.
800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, USA

GE Healthcare Japan Corporation
Sanken Bldg. 3-25-1, Hyakunincho Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

